COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
Ret. from binders
16 OCT 1956

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/journal-of-phytopathology_1952-1953_20

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

BAND 20

Mit 201 Abbildungen

1953

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG
Verlag für Landwirtschaft, Veterinärmedizin, Gartenbau und Forstwesen
BERLIN WEST, LINDENSTRASSE 44-47

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
Printed in Germany by A.W. Hayn's Erben, Berlin SO 36

INHALTSVERZEICHNIS ZUM 20. BAND

Abhandlungen

Bazzigher, G., Über mutmaßlich induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L. (Mit 14 Abb.) 383

Bercks, R., Über die Möglichkeit einer Virulenzänderung des Kartoffel-X-Virus 113

Buchwald, N. F., *Botryotinia* (*Sclerotinia*) *globosa* sp. n. on *Allium ursinum*, the Perfect Stage of *Botrytis globosa* Raabe. (With 11 figures) 241

Corbetta, G., Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso (*Oryza sativa* L.) (9 Tavole) 260

Deutschmann, F., Über die „Purple Stain"-Krankheit der Sojabohne und die Farbstoffbildung ihres Erregers *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom. (Mit 14 Abb.) .. 297

Frandsen, N. O., *Ascochyta sojaecola* auf Sojabohne in Deutschland. (Mit 8 Abb.) 375

Gäumann, E., Naef-Roth, St. und Kobel, H., Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. (Mit 12 Abb.) 1

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. (Mit 8 Abb.) 133

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. (Mit 4 Abb.) 449

Hahn, H., Das Verhalten resistenter und anfälliger Leinsorten gegenüber *Colletotrichum lini* Manns et Bolley. (Mit 9 Abb.) 83

Klinkowski, M. und Behr, L., Die „Schwarzbeinigkeit" der Phaseolus-Arten. (Mit 13 Abb.) 405

Kobel, F., Zur Diagnose der Steinobstvirosen. (Mit 6 Abb.) 353

Kobel, H., Untersuchungen über den Einfluß des Kupfers auf die pflanzliche Transpiration. (Mit 10 Abb.) 39

Kunz, R., Die Wirkungsweise von *Bacterium solanacearum* E. F. S., dem Erreger der tropischen Schleimkrankheit des Tabaks, auf *Solanum lycopersicum* L. (Mit 15 Abb.) 89

Marcus, O., Über die Y-Virus-Verseuchung der Knollen primär infizierter Kartoffelpflanzen. (Mit 3 Abb.) 121

Mühle, E., Über einen weiteren Fall gleichzeitigen Auftretens von *Dilophospora* spec. mit einem Nematoden. (Mit 3 Abb.) 311

Paclt, J., Kernbildung der Buche (*Fagus silvatica* L.) (Mit 8 Abb.) 255

Quantz, L., Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). (Mit 16 Abb.) 421

Richter, H. und Schneider, R., Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K. (Mit 23 Abb.) 167

Schlösser, L.-A., Zur Frage der Wanderung europäischer Rübenvirosen 75

Stalder, L., Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben. (Mit 11 Abb.) 315

Stapp, C. und Wetter, C., Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. III. Mitteilung. (Mit 4 Abb.) 227

Terrier, Ch., Note sur *Lophodermium macrosporum* (Hartig) Rehm 397

Kurze Mitteilungen

Gäumann, E., Stoll, Ch, und Kern, H., Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc.. Vorläufige Mitteilung 345

Besprechungen

Besprechungen 239, 348, 459

INHALTSVERZEICHNIS

Heft 1

Abhandlungen

GÄUMANN, E., NAEF-ROTH, ST. und KOBEL, H., Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. (Mit 12 Abb.) 1

KOBEL, H., Untersuchungen über den Einfluß des Kupfers auf die pflanzliche Transpiration. (Mit 10 Abb.) 39

SCHLÖSSER, L.-A., Zur Frage der Wanderung europäischer Rübenvirosen 75

HAHN, H., Das Verhalten resistenter und anfälliger Leinsorten gegenüber *Colletotrichum lini* Manns et Bolley. (Mit 9 Abb.) 83

KUNZ, R., Die Wirkungsweise von *Bacterium solanacearum* E. F. S., dem Erreger der tropischen Schleimkrankheit des Tabaks, auf *Solanum lycopersicum* L. (Mit 15 Abb.) 89

Heft 2

Abhandlungen

BERCKS, R., Über die Möglichkeit einer Virulenzänderung des Kartoffel-X-Virus 113

MARCUS, O., Über die Y-Virus-Verseuchung der Knollen primär infizierter Kartoffelpflanzen. (Mit 3 Abb.) 121

GÄUMANN, E. und NAEF-ROTH, ST., Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. (Mit 8 Abb.) 133

RICHTER, H. und SCHNEIDER, R., Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K. (Mit 23 Abb.) 167

STAPP, C. und WETTER, C., Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. III. Mitteilung. (Mit 4 Abb.) 227

Besprechungen 239

Heft 3

Abhandlungen

BUCHWALD, N. F., *Botryotinia* (*Sclerotinia*) *globosa* sp. n. on *Allium ursinum*, the Perfect Stage of *Botrytis globosa* Raabe. (With 11 figures) 241

PAGLT, J., Kernbildung der Buche (*Fagus silvatica* L.) (Mit 8 Abb.) 255

CORBETTA, G., Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso (*Oryza sativa* L.) (9 Tavole) 260

Deutschmann, F., Über die „Purple Stain"-Krankheit der Sojabohne und die Farbstoffbildung ihres Erregers *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom. (Mit 14 Abb.) .. 297

Mühle, E., Über einen weiteren Fall gleichzeitigen Auftretens von *Dilophospora* spec. mit einem Nematoden. (Mit 3 Abb.) 311

Stalder, L., Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben.

Kurze Mitteilungen

Gäumann, E., Stoll, Ch. und Kern, H., Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc.. Vorläufige Mitteilung 345

Besprechungen 348

Heft 4

Abhandlungen

Kobel, F., Zur Diagnose der Steinobstvirosen. (Mit 6 Abb.) 353

Frandsen, N. O., *Ascochyta sojaecola* auf Sojabohne in Deutschland. (Mit 8 Abb.) 375

Bazzigher, G., Über mutmaßlich induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L. (Mit 14 Abb.) 383

Terrier, Ch., Note sur *Lophodermium macrosporum* (Hartig) Rehm 397

Klinkowski, M. und Behr, L., Die „Schwarzbeinigkeit" der Phaseolus-Arten. (Mit 13 Abb.) 405

Quantz, L., Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). (Mit 16 Abb.) 421

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. (Mit 4 Abb.) 449

Besprechungen 459

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc.

Von

E. Gäumann, St. Naef-Roth und H. Kobel

Mit 19 Tabellen und 12 Abbildungen im Text

Inhalt: Einleitung. — § 1. Die Symptome der Fusarinsäure an Tomatensprossen. — § 2. Die Lage der dosis minima. — § 3. Die biologische Identität der Fusarinsäuren von verschiedener Provenienz. — § 4. Die biologische Wirksamkeit einiger Homologa der Fusarinsäure. — § 5. Der Einfluß des pH auf die Wirkungsweise der Fusarinsäure. — § 6. Das Zusammenwirken von Fusarinsäure und Bernsteinsäure. — § 7. Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Wirkungsweise der Fusarinsäure. — § 8. Das Zusammenwirken von Lycomarasmin und Fusarinsäure. — § 9. Das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure. — Zusammenfassung. — Literatur.

Einleitung

Im Jahre 1947 gelangte unsere Mitarbeiterin Frl. Franziska Turel in ihrer Diplomarbeit zum Schluß, daß das *Fusarium lycopersici* neben dem Lycomarasmin noch mindestens ein zweites Toxin bilden müsse. Sie suchte nämlich nach einem mikrobiologischen Test für das Lycomarasmin und stellte dabei fest, daß das Wirkungsspektrum des Lycomarasmins äußerst beschränkt ist. Von 77 Hefen und Bakterien, die sie prüfte, sprach keine einzige Art auf reines Lycomarasmin an; dagegen wurden einige Bakterien, unter ihnen *Bacillus mesentericus, Staphylococcus pyogenes* und *Pseudomonas aeruginosa,* durch das rohe Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* schwach gehemmt; also muß im rohen Kulturfiltrat noch ein gegen diese Bakterien wirkendes Antibioticum vorhanden sein.

Leider erwies sich der auf diesen Bakterien beruhende Test für die chemische Aufarbeitung der Kulturfiltrate als zu wenig scharf; wir mußten deshalb das Suchen nach dem mutmaßlichen zweiten Toxin zurückstellen, bis ein besserer Test gefunden war. Als ein solcher erwies sich der Keimungstest mit den Brandsporen von *Ustilago zeae,* der von Heinz Kern entwickelt und von Fr. Kobel (1951) und Kern (1952) näher beschrieben worden ist. Die Keimung der Brandsporen der *Ustilago zeae* wird nämlich durch das in Frage stehende zweite Toxin stark gehemmt (die LD_{50} liegt für die nicht völlig reine Substanz bei $0.74 \cdot 10^{-4}$ molar), während andererseits reines Lycomarasmin für die Sporen des Maisbrandes ungiftig ist.

Die Aufarbeitung der Kulturfiltrate wurde von Herrn Dr. A. BOLLER vom organisch-chemischen Institut unserer Hochschule (Abt. Prof. Dr. PL. A. PLATTNER) durchgeführt und ergab, daß das gesuchte zweite Toxin identisch ist mit der Fusarinsäure (fusaric acid), die YABUTA, KAMBE und HAYASHI (1934) für das *Fusarium heterosporum* Nees, einem Erreger der Bakanaëkrankheit des Reises in Japan, nachgewiesen haben. Chemisch ist Fusarinsäure eine Pyridincarbonsäure von der Bruttoformel $C_{10}H_{13}O_2N$ und dem Molekulargewicht 179, 5 n-Butyl-Picolinsäure, also verwandt mit Nikotinsäure.

Außer durch das *Fusarium heterosporum* Nees und das *Fusarium lycopersici* Sacc. wird die Fusarinsäure nach unsern Erfahrungen auch durch die *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. gebildet, neben *Fusarium heterosporum*, ein zweiter Erreger des Bakanaë-Effektes auf Mais, Reis und Zuckerrohr in Ostasien, ferner durch das *Fusarium vasinfectum* Atk., den Erreger einer Welkekrankheit der Baumwollsträucher. Wir haben hierüber bereits eine kurze vorläufige Mitteilung (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952) veröffentlicht.

Abb. 1. Symptome der Fusarinsäure (bei schwacher Konzentration) am Stengel eines Tomatensprosses. Die eingefallenen Rillen ziehen sich längs des Stengels hinauf und setzen sich in den Blattstiel fort. ½ nat. Gr.

§ 1. Die Symptome der Fusarinsäure an Tomatensprossen

Die Fusarinsäure löst an abgeschnittenen Tomatensprossen die folgenden Symptome aus:

A. Stengel und Blattstiele

1. Das Aussehen. Bei schwacher Toxinkonzentration werden in den Stengeln zunächst die Rindengewebe über den Gefäßbündeln zerstört, ähnlich wie dies in Abb. 407 bei GÄUMANN (1951) für Patulin dargestellt wurde; dementsprechend treten an den Stengeln hell graugrün verfärbte Rillen auf, die sich rasch vertiefen (Abb. 1). Sie dehnen sich nach oben aus und greifen allmählich auf die Blattstiele über (Abb. 1 rechts). Dieses Symptom hat die Fusarinsäure mit dem Patulin gemeinsam (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 406 und 407). Gelegentlich kann es auch geschehen, daß der Stengel normal bleibt und daß die Schädigungen unmittelbar an irgendeinem Blattstiel aufzutreten beginnen.

Bei stärkerer Toxinkonzentration wird die Schädigung der Stengel zuerst an ihrer Schnittfläche makroskopisch sichtbar. Das gesamte Gewebe wird aufgeweicht (Abb. 2 links) und eingeschnürt (Abb. 2 rechts); doch werden die Gefäßbündel als solche nicht verfärbt. Später schreitet der Gewebezerfall nach oben weiter und greift auf die Blattstiele über. Im gleichen

Maße verdünnt sich der Stengel, bis er zuletzt nur noch ein Viertel seiner ursprünglichen Dicke mißt. Dann trocknet er ein.

2. Der Zeitpunkt des Auftretens. Schädigungen an der Stengelbasis sind, wenn sie überhaupt auftreten, noch früher erkennbar als solche an den Blättern, nämlich oft bereits vier Stunden nach beendigter Giftaufnahme. Nach 48 Stunden ist die Symptomausprägung abgeschlossen.

Abb. 2. Symptome der Fusarinsäure (bei stärkerer Konzentration) an Tomatensprossen. Links: Schwache Wirkung auf die Stengelbasis, ferner vereinzelte kleine Blattflecken. Rechts: Kräftige Symptome an der Stengelbasis und Einrollen der Blattspreiten. ½ nat. Gr.

B. Blätter

a) Blattflecken (Nekrosen)

1. Aussehen. Graugrün, eingesunken, durchscheinend, wie eine straff gespannte Membran. In der Größe variierend, jedoch selten größer als 10 mm². Scharf, meist unregelmäßig zackig begrenzt (Abb. 3).

2. Ort des Auftretens. Unregelmäßig. Ganz junge, noch nicht voll entwickelte Blätter werden seltener geschädigt; sonst ist keine Bevorzugung irgendeines Blattes feststellbar. Das eine Blatt eines Sprosses kann sehr heftige Symptome zeigen, während die andern völlig gesund erscheinen. In andern Fällen sind die Schädigungen mehr oder weniger gleichmäßig verteilt.

Auch innerhalb des einzelnen Blattes ist das Auftreten der Nekrosen nicht ortsbedingt; sie sind wahllos auf die Fiederblätter verteilt. Manchmal sind alle Fiederblätter geschädigt, dann wieder nur zwei, oder nur ein einzelnes.

Keines ist, infolge seiner Stellung am Blatt, verglichen mit den andern empfindlicher oder widerstandsfähiger.

Auch innerhalb des einzelnen Fiederblattes besteht keine bestimmte Anordnung der Nekrosen. Sie liegen in den Interkostalfeldern oder dehnen sich über eine Blattrippe aus, als ob diese nicht vorhanden wäre. Manchmal laufen jedoch Zonen stärkerer Schädigungen entlang der Hauptrippe und der primären Nebenrippen (Abb. 4); die betreffenden Krankheitsbilder erinnern dann entfernt an diejenigen von Patulin (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 403).

3. Zeitpunkt des Auftretens. Die ersten Flecken können bereits sechs Stunden nach der Giftaufnahme in Erscheinung treten, falls diese 150 mg/kg oder mehr beträgt. Nach 24 Stunden sind die Symptome schon deutlich, und nach 48 Stunden liegt das endgültige Krankheitsbild vor. Von daweg bilden sich keine neuen Flecken mehr und die vorhandenen nehmen an Größe nicht mehr wesentlich zu.

b) Einrollen der Blattränder

1. Beschreibung. Der Rand rollt sich von beiden Seiten her symmetrisch gegen die Blattmitte ein. Dieses Einrollen beginnt an der Spitze des Fiederblattes und schreitet allmählich achsenwärts fort. Das Krankheitsbild (Abb. 2, rechts) erinnert dann stark an das physikalische Welken, wie es z. B. durch Glukosane ausgelöst wird (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 465).

Abb. 3. Symptome der Fusarinsäure an einem Tomatenfiederblatt. Auf der Blattspreite sind einige zackige, scharf umgrenzte Nekrosen entstanden

2. Ort und Zeitpunkt des Auftretens. Fiederblätter mit starker Fleckenbildung beginnen sich etwa 24 Stunden nach der Giftaufnahme einzurollen. Dieses Symptom tritt mit Vorliebe an dem unpaaren und den beiden vorderen paarigen Fiederblättern auf. Nach 48 Stunden ist das Einrollen meist noch nicht beendet.

3. Welken. Das Schlaffwerden der Blätter ist ein Symptom, das im allgemeinen erst im späteren Verlauf und nur bei stark geschädigten Blättern auftritt. Sind Stengel oder Blattstiele stark geschädigt, so welken wegen Störung des Wassernachschubes innert kurzer Zeit auch solche Blätter, die nur schwache Fleckensymptome zeigen.

Abb. 5 zeigt das Schlußbild der durch Fusarinsäure ausgelösten Intoxikation. Der Stengel ist gerillt und zum Teil schlaff; die Blattstiele der ältern Blätter sind ebenfalls gerillt und hängen hernieder; die Blattspreiten der

ältesten Blätter sind zum Teil nekrotisch eingefallen, zum Teil vom Rande her eingerollt; der Schopf der jüngsten Blätter weist dagegen nur unerhebliche Schädigungen auf.

Da die Fusarinsäure vom gleichen Krankheitserreger wie das Lycomarasmin und zu gleicher Zeit wie dieses gebildet wird, so liegt es nahe,

Abb. 4. Symptome der Fusarinsäure an einem Tomatenfiederblatt; in dem vorliegenden seltenen Fall sind Nekrosen an den Blattnerven entstanden, wogegen die Interkostalfelder zunächst noch symptomlos bleiben. 1½ nat. Gr.

Abb. 5. Endstadium der Fusarinsäurewelke bei einem Tomatensproß. 1/5 nat. Gr.

die Krankheitsbilder, welche die beiden Toxine an Tomatensprossen auslösen, miteinander zu vergleichen.

Lycomarasmin greift in schwacher Konzentration bzw. bei Verabreichung geringer Dosen zunächst die Spitzen der Fiederblättchen an (Abb. 6) und verursacht dort ein charakteristisches Verblassen, gefolgt von einer Nekrose und einem Verdorren der geschädigten Gewebe. Auf dieses Symptom an den Fiederblattspitzen hat bei spontan erkrankenden Tomatenpflanzen zuerst Foster (1946) hingewiesen; Gäumann, Naef-Roth und Miescher (1950, S. 266) konnten jedoch bei ihrer damaligen Versuchsanordnung mit reinen Lycomarasminlösungen dieses Symptom nicht erhalten und

Abb. 6. Erste Symptome der Lycomarasmin schädigung (Nekrosen an den Spitzen der Fiederblättchen) an einem Tomatenblatt nach dem Überschreiten der dosis minima (150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in der Konzentration von 10^{-3} molar). ½ nat. Gr. (Nach GÄUMANN, 1951 a)

erwogen deshalb den Gedanken, die von FOSTER beobachtete Schädigung der Fiederblattspitzen könnte auf physikalischem Wege durch Glukosane verursacht worden sein; denn Glukosane lösen in der Tat als erste Schädigungsstufe ähnliche Störungen aus (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 464). Doch haben wir seither erkannt, daß das damalige Ausbleiben der Fiederblattspitzennekrosen nur durch die Versuchsmethodik bedingt war; läßt man nämlich, wie wir es damals taten, große, 20 bis 30 cm hohe Tomatensprosse die Toxinlösung aufnehmen, so kommt es tatsächlich nur ausnahmsweise zu der charakteristischen Verfärbung und Schädigung der äußersten Spitzen der Fiederblättchen; verwendet man dagegen, wie wir es seither bei der Bestimmung der dosis minima tun, nur kleine, vielleicht 10 bis 15 cm lange, vier junge Blätter tragende Sprosse, dann tritt das in Abb. 6 festgehaltene und von FOSTER (1946) in der freien Natur erkannte erste Krankheitssymptom regelmäßig auf.

Bei starker Konzentration bzw. bei Verabreichung hoher Dosen verursacht das Lycomarasmin an den Fiederblättern überdies kräftige Nekrosen der Interkostalfelder (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 402). Später werden die Stiele der Fiederblättchen schlaff, und die gesamten Blattspreiten brechen zusammen und verdorren (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 404). Charakteristische Stengelsymptome sind bei Lycomarasmin nicht vorhanden.

Die Krankheitsbilder, die das Lycomarasmin und die Fusarinsäure an Tomatensprossen auslösen, können somit an Hand von drei Symptomgruppen verglichen werden:

1. Die ersten bzw. die durch schwache Toxingaben ausgelösten Symptome sind bei den zwei Toxinen deutlich verschieden; bei Lycomarasmin treten zuerst Verfärbungen bzw. Nekrosen an den Fiederblatt spitzen auf (Abb. 6), bei der Fusarinsäure dagegen sogleich Nekrosen auf den Interkostalfeldern (Abb. 3), während die Fiederblattspitzen intakt bleiben. Will man also die beiden Toxine an Hand ihres pathogenen Effektes voneinander differenzieren, so müssen hierzu schwache Toxingaben verwendet werden.

2. Bei schwerer Intoxikation, also bei hohen Toxingaben, sind die an den Blättern auftretenden Symptome bei beiden Toxinen

ähnlich; bei beiden Toxinen bilden sich nämlich auf den Interkostalfeldern eckige Nekrosen, die unter Umständen zusammenfließen können. Man vergleiche z. B. die vorstehende Abb. 3 (Fusarinsäure) mit der Aufnahme bei GÄUMANN, 1951, Abb. 402 (Lycomarasmin); auch ein spezialisierter Beobachter wird nicht imstande sein, sie auseinanderzuhalten.

3. An den Stengeln treten nur bei Fusarinsäure, dagegen nicht bei Lycomarasmin, manifeste Symptome auf, und zwar nach Art unserer Abb. 2 und 3.

Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß Lycomarasmin und Fusarinsäure gewebespezifisch auf die Tomatensprosse einwirken, also eine Prädilektion für bestimmte Gewebe des Wirtes zeigen; so passiert das Lycomarasmin den Stengel und die Blattstiele des Wirtes, ohne eine Bahnspur zu hinterlassen, während die Fusarinsäure in den dortigen Grundgeweben in der Regel deutliche Schädigungen auslöst. Anderseits schädigt das Lycomarasmin, obschon es zweifelsohne über die gesamte Blattspreite verbreitet ist, zunächst nur die Fiederblattspitzen, die ihrerseits auf die Fusarinsäure nicht besonders ansprechen.

Die tiefern Ursachen dieser Gewebespezifität vermögen wir noch nicht zu erkennen. Lycomarasmin und Fusarinsäure greifen zwar, wie wir in zwei andern Arbeiten darlegen werden, im Innern des Wirtes an unterschiedlicher Stelle an; so verläuft die pathologische Verschiebung des Wasserhaushaltes bei Lycomarasmin und bei Fusarinsäure in völlig verschiedener Weise. Ferner schädigt die Fusarinsäure die osmotischen Eigenschaften der Protoplasten etwa 400mal stärker als das Lycomarasmin (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952); wenn also THATCHER (1942) gezeigt hat, daß ein rohes Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* die Deplasmolysierungszeit der Grundgewebezellen von Tomatenblättern auf rund die Hälfte herabsetzt, so wird dieser Effekt vorwiegend durch die Fusarinsäure und nicht durch das Lycomarasmin ausgelöst. Doch reichen diese generellen Feststellungen nicht aus, um die gewebespezifischen Affinitäten der beiden Toxine zu erklären.

Zu beachten ist ferner, daß das rohe Kulturfiltrat des *Fusarium lycopersici* in den Tomatenstengeln eine Verfärbung der Gefäßbündel auslöst, ähnlich wie sie bei spontanen Infektionen der Tomatenpflanzen durch das *Fusarium lycopersici* auftritt, während anderseits weder das Lycomarasmin noch die Fusarinsäure imstande sind, derartige Verfärbungen der Gefäßbündel hervorzurufen. Das *Fusarium lycopersici* muß somit neben dem Lycomarasmin und der Fusarinsäure noch ein drittes Toxin bilden, das spezifisch auf die Leitungsbahnen einwirkt. Wir hoffen, über diesen Stoff später zu berichten.

§ 2. Die Lage der dosis minima

Als dosis minima oder kritische Dosis bezeichnen wir bei Welketoxinen jene Giftmenge, die (bei einer bestimmten Konzentration) je kg Lebendgewicht notwendig ist, um unter bestimmten äußern Bedingungen eine durch-

schnittliche Schädigung von der Intensitätsstufe 1.5 auszulösen (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952).

Die Symptome der Fusarinsäure bei Tomatenpflanzen wurden dabei in folgender Weise bonitiert:

a) Stengel

Stufe 1. In der Nähe der Schnittstelle aufgeweicht und leicht eingeschnürt.
Stufe 2. Die Hälfte des Stengels (von der Schnittstelle bis zum Ansatz des untersten Blattes) mehr oder weniger weich, zusammengefallen, runzelig. Blattstiele unversehrt.
Stufe 3. Schädigungen im Ausmaß der Stufe 2 auch an den Blattstielen; diese sind also nur in ihrer unteren Hälfte geschädigt.
Stufe 4. Stengel und Blattstiele zu mehr als der Hälfte ihrer Länge aufgeweicht, meist zusammengefallen, am Eintrocknen.

b) Blätter

Stufe 1. Zerstreute helle, durchscheinende, unregelmäßige Flecken auf den Spreiten.
Stufe 2. Flecken zahlreicher, oft ineinander übergehend. Blattränder angetrocknet und leicht eingerollt.
Stufe 3. Flecken wie bei Stufe 2 oder stärker. Ränder stark eingerollt, Blatt schlaff.
Stufe 4. Ganzes Blatt vollständig welk, dunkelgrün verfärbt, eingerollt.

Zum Schlusse werden die Bewertungen der Fiederblätter und des Stengels ineinander gerechnet.

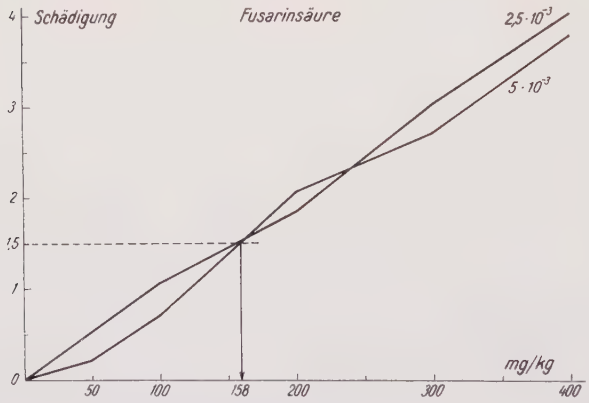


Abb. 7. Die schädigende Wirkung der Fusarinsäure auf junge Gewebe von Tomatenpflanzen. Abszisse: Verabreichte Toxinmenge in mg je kg Frischgewicht. Ordinate: Ausmaß der Schädigung nach 48 Stunden. Erklärung im Text

Mit Fusarinsäure wurden zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen ($2.5 \cdot 10^{-3}$ und $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar) durchgeführt. Sie lieferten zufälligerweise für die Bonitierungsstufe 1.5 denselben Wert, nämlich 158 mg je kg Lebendgewicht (Abb. 7). Die summarische Giftigkeit der Fusarinsäure für junge Tomatengewebe, d. h. die dosis minima für die Auslösung bestimmter Nekrosen, liegt also im selben Größenbereich wie beim Lycomarasmin.

§ 3. Die biologische Identität der Fusarinsäuren von verschiedener Provenienz

Wie wir in der Einleitung kurz berichteten, wird Fusarinsäure außer durch *Fusarium heterosporum* und *Fusarium lycopersici* auch durch *Gibberella Fujikuroi* und *Fusarium vasinfectum* als Welketoxin gebildet. Wir fragen uns deshalb, ob es sich bei diesen verschiedenen Provenienzen um biologisch vollkommen identische Produkte handelt oder ob infolge Isomerien,

Tautomerien usw. charakteristische Unterschiede in ihrer biologischen Wirksamkeit bestehen.

Zur Prüfung dieser Frage wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt, die eine mit Tomatensprossen und *Ustilago*-Sporen, die andere mit Testbakterien.

Bei der Versuchsreihe mit Tomatensprossen und *Ustilago*-Sporen wurde das pH sämtlicher Lösungen auf 6.2 eingestellt; die Konzentration betrug $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar. Die Ergebnisse sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1

Die biologische Wirksamkeit der Fusarinsäuren von verschiedener Provenienz

Provenienz	Dosis minima bei Tomatensprossen in mg je kg Frischgewicht		LD_{50} bei Brandsporen von *Ustilago zeae*
	Stengel	Blätter	molar
Fusarium lycopersici Sacc.	> 300	110	$1.4 \cdot 10^{-4}$
Fusarium vasinfectum Atk.	> 300	100	$1.7 \cdot 10^{-4}$
Gibberella Fujikuroi (Saw.) Woll.	> 300	150	$2.3 \cdot 10^{-4}$
Gemisch der drei auf biologischem Wege gewonnenen Fusarinsäuren	> 300	160	$1.5 \cdot 10^{-4}$
Synthetische Fusarinsäure	> 300	140	$1.5 \cdot 10^{-4}$

Die dosis minima, um bei den Blättern junger Tomatensprosse unter bestimmten Versuchsbedingungen eine Schädigung von der durchschnittlichen Intensität von 1.5 hervorzurufen, liegt in Tabelle 1 bei den drei von natürlichen Welke-Erregern gewonnenen Produkten zwischen 100 und 150 mg je kg Lebendgewicht; beim Gemisch der drei Provenienzen liegt sie bei 160 mg; sie ist also bei den drei untersuchten natürlichen Provenienzen innerhalb des biologischen Schwankungsbereiches identisch.

Bei chemisch reiner, auf synthetischem Wege gewonnener Fusarinsäure liegt sie bei 140 mg je kg Frischgewicht, also innerhalb des Schwankungsbereiches der auf biologischem Wege gewonnenen Fusarinsäuren; soweit die Blattschädigungen in Frage kommen, dürfen somit sämtliche vier Fusarinsäureprovenienzen als identisch angesprochen werden.

Stengelschädigungen traten im Bereich der verabreichten Fusarinsäuredosen nicht auf; dies hängt, wie wir in einem späteren Kapitel besprechen werden, mit dem pH der verwendeten Lösungen zusammen, das mit dem Wert von 6.2 die stengelschädigende Aziditätszone bereits überschritten hat.

Dieselbe biologische Identität der drei von natürlichen Produzenten gewonnenen Fusarinsäuren einerseits und der synthetischen Fusarinsäure anderseits ergibt sich in Tabelle 1 aus der LD_{50} für *Ustilago*-Sporen, deren Werte zwischen 1.4 und $2.3 \cdot 10^{-4}$ molar liegen, also innerhalb des üblichen biologischen Schwankungsbereiches.

Tabelle

Die Wachstumsgrenze einiger Bakterien bei Fusarinsäuren von verschiedener Wachstum des betreffenden

Provenienz des Materiales	*Bacillus subtilis*	*Escherichia coli*	*Bacillus megatherium*
Fusarium vasinfectum Atk.	$2.0 \cdot 10^{-4}$	$3.1 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-4}$
Gibberella Fujikuroi (Saw.) Woll.	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$3.1 \cdot 10^{-4}$
Gemisch der beiden Provenienzen	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$6.3 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-4}$
Synthetische Fusarinsäure	$3.1 \cdot 10^{-4}$	$3.1 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-4}$

In einer zweiten Versuchsreihe wurde die biologische Identität der aus verschiedenen Quellen gewonnenen Fusarinsäuren an Hand eines Bakterientestes nachgeprüft (Tabelle 2). Der *Bacillus subtilis*-Test wurde mit steigenden Verdünnungsreihen in 1 ml Difco-Bouillon in Reagenzgläsern durchgeführt, die mit einem Tropfen einer Sporensuspension des Bakteriums beimpft und bei 37° C während 14 Stunden inkubiert wurden. Aus der letzten noch gehemmten Verdünnungsstufe wurde die Grenzkonzentration für das Wachstum berechnet.

Das antibakterielle Spektrum für die übrigen Bakterien der Tabelle 2 wurde an Hand des Agar-Verdünnungs-Strichtestes bestimmt; dabei wurde 1 ml der Testlösung in 9 ml Agar (40°) gegeben; nach dem Erstarren wurden die am Kopf der Tabelle 2 genannten Bakterien strichförmig auf den Agar aufgetragen und 14 Stunden bei 37° C inkubiert. Die Ausgangslösung besaß eine Toxinkonzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar und ein pH von 6.2. Die Zahlen der Tabelle 2 geben an, bei welcher Fusarinsäurekonzentration im Agar das Wachstum des betreffenden Bakteriums noch eben gehemmt wurde.

Infolge eines Mißverständnisses wurde die vom *Fusarium lycopersici* gebildete Fusarinsäure nicht in diesen Versuch aufgenommen. Tabelle 2 läßt erkennen, daß zwischen der spezifischen mikrobiellen Giftigkeit der vom *Fusarium vasinfectum* und von der *Gibberella Fujikuroi* produzierten Fusarinsäuren kein wesentlicher Unterschied besteht. Gegenüber *Bacillus subtilis* und *Escherichia coli* scheint zwar die Wirkungsgrenze der von der *Gibberella Fujikuroi* stammenden Fusarinsäure etwas niedriger zu liegen; da aber in beiden Spalten die Wirkungszahlen der *Fusarium vasinfectum*-Fusarinsäure vollständig mit denjenigen der synthetischen Fusarinsäure übereinstimmen, so glauben wir nicht, daß aus Tabelle 2 eine geringere Wertigkeit der von der *Gibberella Fujikuroi* gebildeten Fusarinsäure herausgelesen werden darf, sondern wir möchten eher vermuten, daß das aus den *Gibberella Fujikuroi*-Kulturen gewonnene Produkt noch Spuren einer Begleitsubstanz enthält, welche die Depression der Werte bei *Bacillus subtilis* und bei *Escherichia coli* auslöste; biologisch gewonnene Substanzen sind ja wohl nie von gewissen Rest-Verunreinigungen frei.

Zusammenfassend möchten wir daher auf Grund der Tabellen 1 und 2 vermuten, daß die drei hier zur Diskussion stehenden Fusarinsäuren auch in ihrer biologischen Auswirkung vollkommen miteinander identisch sind.

2

Provenienz. Die Zahlen geben die Verdünnung in Molaritäten an, bei welcher das Bakteriums noch eben gehemmt wird

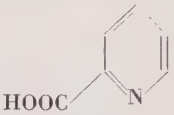
Paratuberkel-bacillus	*Streptococcus faecalis*	*Micrococcus pyogenes* var. *aureus*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Candida vulgaris*
$2.5 \cdot 10^{-4}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$6.3 \cdot 10^{-4}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$
$3.1 \cdot 10^{-4}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$> 2.5 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$
$3.1 \cdot 10^{-4}$	$6.3 \cdot 10^{-4}$	$6.3 \cdot 10^{-4}$	$> 2.5 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$
$2.5 \cdot 10^{-4}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$1.3 \cdot 10^{-3}$	$2.5 \cdot 10^{-3}$	$> 2.5 \cdot 10^{-3}$

§ 4. Die biologische Wirksamkeit einiger Homologa der Fusarinsäure

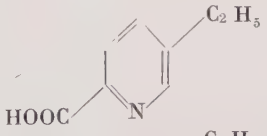
Die Fusarinsäure besitzt chemisch eine verhältnismäßig einfache Konstitution. Sie leitet sich von der Picolinsäure durch Ersatz des Wasserstoffes in Stellung 5 durch einen normalen Butylrest ab und ist somit 5-n-Butylpicolinsäure. Da die Darstellung verwandter Stoffe demnach recht einfach ist, entschlossen wir uns zu prüfen, ob die schädigende Wirkung auf die 5 n-Butylpyridin-2-carbonsäure (eben die Fusarinsäure) beschränkt sei oder ob auch chemisch ähnliche Stoffe in ähnlicher Weise toxisch wirksam seien.

Als Testsubstanzen verwendeten wir die Verbindungen, bei denen die Butylgruppe ersetzt war 1. durch eine n-Hexylgruppe, 2. durch eine Aethylgruppe, und 3. durch ein Wasserstoffatom (d. h. die Picolinsäure selbst*)).

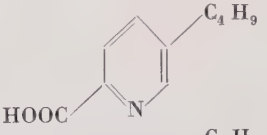
Picolinsäure



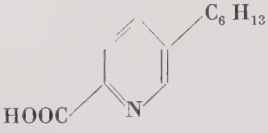
5-Aethylpyridincarbonsäure



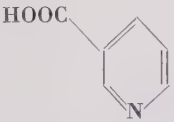
5 n-Butylpyridincarbonsäure
(= Fusarinsäure)



5 n-Hexylpyridincarbonsäure



Nicotinsäure



*) Für die Überlassung der Fusarinsäure und ihrer Homologa danken wir Herrn Prof. Dr. Pl. A. Plattner vom organisch-chemischen Institut unserer Hochschule bestens; er wird über die Konstitutionsaufklärung der Fusarinsäure und die chemischen Synthesen an anderer Stelle selbst berichten.

Ferner testeten wir Nicotinsäure; diese unterscheidet sich von der Picolinsäure dadurch, daß die Carboxylgruppe in der 3-Stellung steht.

Die biologische Prüfung erstreckte sich a) auf die dosis minima für die Schädigung von Tomatensprossen, b) auf die Bestimmung der LD_{50} für *Ustilago*-Sporen und c) auf die Bestimmung der Wachstumsgrenze bei einigen Bakterien.

a) Die dosis minima für die Schädigung von Tomatensprossen

Die Toxinmengen, die je kg Lebendgewicht notwendig sind, um bei Tomatenblättern eine durchschnittliche Schädigung von der Intensität 1.5 zu verursachen, sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Sie läßt erkennen, daß mit zunehmender Länge des Substituenten die dosis minima steigt, die Giftigkeit der geprüften Verbindungen für Tomatensprosse demnach fällt.

Ein eventueller Stengeleffekt der geprüften Verbindungen konnte in dieser Versuchsreihe nicht bestimmt werden, da (wie wir in § 5 näher besprechen werden) bei Tomatensprossen ein Stengeleffekt im Bereich einer Reaktion der Toxinlösung von pH 6.2 normalerweise nicht auftritt; nur bei der 5 n-Hexylpyridincarbonsäure wurden geringfügige Stengelschädigungen erkennbar.

Tabelle 3

Die Giftigkeit einiger Homologa der Fusarinsäure für Tomatensprosse und für Brandsporen von *Ustilago zeae*. (pH der verwendeten Toxinlösungen 6.2)

Verbindung	Dosis minima für die Schädigung der Blätter von Tomatensprossen mg je kg Frischgewicht	LD_{50} für die Brandsporen von *Ustilago zeae* molar
Picolinsäure	110	$4 \cdot 10^{-4}$
5-Aethylpyridincarbonsäure	130	$6 \cdot 10^{-4}$
5n-Butylpyridincarbonsäure (Fusarinsäure)	140	$1.5 \cdot 10^{-4}$
5n-Hexylpyridincarbonsäure	250	$0.83 \cdot 10^{-4}$
Nicotinsäure	> 500	$> 12.5 \cdot 10^{-4}$

b) Die LD_{50} für Brandsporen von *Ustilago zeae*

Im Gegensatz zur Schädigung der Tomatensprosse zeigen die LD_{50}-Konzentrationen für die Hemmung der Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae* in Tabelle 3 keinen sinnvollen Verlauf. Die LD_{50}-Konzentrationen werden von der 5-Aethyl- zur 5 n-Hexylpyridin-2-carbonsäure mit zunehmender Verlängerung des Substituenten geringer, d. h. ihre Giftigkeit für die Brandsporen von *Ustilago zeae* nimmt zu, dies im Gegensatz zum Abfall ihrer Giftigkeit für Tomatensprosse. Endlich ist Nicotinsäure für die Brandsporen von *Ustilago zeae* etwa 15mal weniger giftig als die 5 n-Hexylpyridincarbonsäure.

c) Die antibakterielle Wirkung

Es wurden dieselben Bakterien getestet wie für Tabelle 2. Die antibakterielle Wirksamkeit der fünf geprüften Substanzen ist allgemein sehr niedrig. Für *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Bacillus megatherium* und Paratuberkelbazillen ist die 5 n-Butylpyridin-carbonsäure, für *Streptococcus faecalis, Micrococcus pyogenes* und *Candida vulgaris* von den geprüften Homologa die 5 n-Hexylpyridincarbonsäure am giftigsten. Picolinsäure und Nicotinsäure sind für die geprüften Bakterien allgemein fast ungiftig. Eine gewisse Länge des Alkylrestes scheint auf alle Fälle für eine ausgeprägte Wirkung erforderlich zu sein.

Zusammenfassend möchten wir aus diesen Versuchen, trotz ihrer Unvollständigkeit, schließen, daß wahrscheinlich die Picolinsäure-Struktur für die biologische Wirksamkeit der Fusarinsäure verantwortlich gemacht werden muß; denn die ähnlich gebaute Nicotinsäure ist in den verwendeten Konzentrationen wenig wirksam. Die Wirksamkeit der Picolinsäure selbst wird durch den in der Stellung 5 angefügten Alkylrest modifiziert.

§ 5. Der Einfluß des pH auf die Wirkungsweise der Fusarinsäure

Während des Suchens nach dem zweiten Toxin, das mutmaßlicherweise neben dem Lycomarasmin in den Kulturfiltraten des *Fusarium lycopersici* vorhanden war, mußten naturgemäß Hunderte von Fraktionen und Proben von unterschiedlichem Reinheitsgrad durchgetestet werden. Dabei fiel uns immer wieder auf, daß sich die in § 1 beschriebenen Stengel- und Blattsymptome nicht in sinnvoller Weise wiederholten; diese Inkonstanz der Symptome schuf viel Verwirrung; denn wir mußten naturgemäß annehmen, daß in unseren Fraktionen zwei verschiedene Stoffe vorhanden seien, von denen der eine vorwiegend Stengelsymptome und der andere (analog dem Lycomarasmin) ausschließlich Blattsymptome auslöse.

Und auch, als nach langen Umwegen feststand, daß beide Symptomgruppen durch ein und denselben Stoff, nämlich Fusarinsäure, ausgelöst werden, ergaben sich wieder ähnliche Schwierigkeiten, wenn Fusarinsäuren von verschiedener Provenienz, nämlich von *Fusarium lycopersici,* von *Fusarium vasinfectum,* von *Gibberella Fujikuroi* und synthetische Fusarinsäure nebeneinander getestet wurden. Immer wieder traten sprunghafte Unterschiede in der Ausprägung der Stengel- und Blattsymptome auf, so daß wir vermuten mußten, die von den verschiedenen Erregern gebildeten Fusarinsäuren seien — ähnlich wie dies bei den verschiedenen Penicillinen der Fall ist — nur grosso modo miteinander identisch.

Erst am Schlusse, als die Fusarinsäure in reiner Form vorlag, stellte es sich heraus, daß diese Unterschiede in der Symptomausprägung vorwiegend durch zwei Variable gesteuert werden, nämlich a) durch das pH der verabreichten Toxinlösung, und b) durch die verabreichte Toxinmenge.

Daß das pH der Toxinlösung eine organspezifische Wirkung auf die Tomatensprosse ausüben könnte, im einen Falle Stengeleffekt + Blatt-

effekt, im andern Falle nur Blatteffekt, war uns neu; denn bei den übrigen Welketoxinen, mit denen wir bis jetzt gearbeitet haben, spielte das pH der verabreichten Toxinlösung innerhalb eines biologisch vernünftigen Bereiches keine Rolle; es war deshalb nicht vorauszusehen, daß sich die Verhältnisse bei der Fusarinsäure abweichend gestalten würden.

Und daß die verabreichte Toxin m e n g e nicht nur einen quantitativen, sondern überdies auch einen qualitativen Effekt (wieder Stengeleffekt + Blatteffekt oder nur Blatteffekt) auslösen könnte, war uns nicht nur neu, sondern war auch deshalb besonders lästig, weil dadurch bei der Isolierung des (noch unbekannten) Toxines die (ebenfalls noch unbekannte und deshalb willkürlich schwankende) Konzentration des Toxines in den betreffenden Rohextrakten q u a l i t a t i v e Effekte bewirkte.

Im vorliegenden Kapitel interessiert uns ausschließlich der Einfluß des pH auf die Wirkungsweise der Fusarinsäure, unabhängig von der Frage, in welcher Weise unter natürlichen Verhältnissen die unterschiedliche Azidität des Substrates zustande kommt. Diese zweite Frage, in welcher Weise der E r r e g e r unter natürlichen Verhältnissen das pH des Substrates, in welchem seine Welketoxine wirken müssen, zu verschieben vermag, wird uns anschließend in § 6 beschäftigen, in § 7 endlich die dritte Frage, welche q u a l i t a t i v e n Effekte die verabreichte Toxin m e n g e auszulösen vermag.

Tabellen 4 und 5 geben zwei entscheidende Versuchsreihen wieder. Die Tomatensprosse erhielten je kg Lebendgewicht 150 mg reine Fusarinsäure aus Kulturen von *Fusarium vasinfectum* bzw. von *Gibberella Fujikuroi* in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar zugeführt. Diese 150 mg entsprechen unter den geprüften Versuchsbedingungen ungefähr der dosis minima, um an den Tomatensprossen entscheidende Schädigungen hervorzurufen. Die Bonitierungszahlen entsprechen dem arithmetischen Mittel aus je 15 Versuchspflanzen; die Streuung wurde nach LINDER (1945) berechnet.

T a b e l l e 4

Der Einfluß des pH der Toxinlösung auf die Symptomausprägung der F u s a r i n s ä u r e bei jungen Tomatensprossen. Die in diesem Versuch verwendete Fusarinsäure stammt aus Kulturen des *Fusarium vasinfectum* Atk. Verabreichte Toxinmenge 150 mg je kg Lebendgewicht

Reaktion der Toxinlösung pH	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Blätter
4.3	1.4 ± 0.51	0.9 ± 0.50
5.0	1.5 ± 0.51	0.8 ± 0.33
5.6	0.7 ± 0.60	1.3 ± 0.47
6.2	0	1.7 ± 0.63
6.8	0	2.1 ± 0.67

Tabelle 5

Der Einfluß des pH der Toxinlösung auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen. Die in diesem Versuch verwendete Fusarinsäure stammt aus Kulturen der *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. Verabreichte Toxinmenge 150 mg je kg Lebendgewicht

Reaktion der Toxinlösung pH	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Blätter
4.3	1.73 ± 0.60	0.93 ± 0.38
5.0	1.33 ± 0.49	0.65 ± 0.48
5.6	1.0 ± 0.37	0.77 ± 0.53
6.2	0	1.37 ± 0.44
6.8	0	1.63 ± 0.68

Wir sehen: Die Symptomausprägung der Fusarinsäure ist sowohl bei den Tomatenstengeln als bei den Tomatenblättern pH-gebunden.

Was zunächst die Tomatenstengel betrifft, so verursacht reine Fusarinsäure mit einem pH von 4.3 in ihren Rindengeweben die größten Schädigungen. Mit zunehmender Alkalinität nimmt die Schädigungsintensität im Rindengewebe der Tomatenstengel ab, um zwischen pH 5.6 und 6.2 gänzlich zu verschwinden. Der Umschlagspunkt liegt etwa bei pH 6.0. Bei pH 6.2 und weiter gegen den alkalischen Bereich hin verursacht die Fusarinsäure in der hier verabreichten Konzentration in den Rindengeweben der Tomatenstengel keine Schädigungen mehr.

Die Tomatenblätter sprechen weniger stark auf die pH-Änderungen der Toxinlösung an. Von pH 4.3 bis pH 5.6 ist in Tabelle 4 und 5 überhaupt keine statistisch gesicherte Verschiebung der Symptomausprägung zu erkennen. Erst von pH 6.2 weg gegen den alkalischen Bereich hin nimmt die Schädigung der Tomatenblätter deutlich zu; die Schädigungsintensität stieg in anderen Versuchen bei pH 7.6 sogar auf durchschnittlich 2.6. Der Umschlagspunkt dürfte auch hier bei ungefähr pH 6.0 liegen.

Wenn somit den Tomatensprossen nur gerade die dosis minima an Fusarinsäure verabreicht wird, so verläuft die pH-gebundene Symptomausprägung bei den Stengeln und Blättern gegensinnig: im Rindengewebe der Stengel verschwinden die Schädigungssymptome, wenn die Reaktion der Toxinlösung von pH 6.0 weg gegen den alkalischen Bereich hin ansteigt; in den Blättern nehmen sie dagegen von pH 6.0 weg an Intensität zu.

Abb. 8 und 9 veranschaulichen den Sachverhalt an Hand von zwei willkürlich herausgegriffenen Tomatensprossen. Beide Sprosse erhielten 150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht zugeführt, und zwar in einer $2.5 \cdot 10^{-3}$ molaren Lösung des reinen Toxines aus einer *Fusarium vasinfectum*-Kultur. In Abb. 8 betrug das pH der verabreichten Toxinlösung 4.3;

Abb. 8. Das Welkebild der Fusarinsäure an jungen Tomatensprossen, wenn das pH der verabreichten Toxinlösung 4.3 beträgt. ½ nat. Gr.

dementsprechend traten sowohl Stengel- als Blattsymptome auf; Stengelsymptome: Zerfall der angeschnittenen Stengelbasis, rillenartiges Einsinken der Rindengewebe am Stengel und an den Blattstielen, Knicken der Blattstiele; Blattsymptome: die üblichen Nekrosen und Einrollungen. In Abb. 9 war das pH der Toxinlösung mittels NaOH auf 6.2 erhöht worden, und es traten dementsprechend nur Blatt- und keine Stengelsymptome auf: Die Stengelbasis ist nicht zerfallen, in den Rindengeweben des Stengels treten keine Rillen auf, und die Blattstiele knicken nicht, sondern nur die Blattspreiten sind in gewohnter Weise nekrotisch geworden und eingerollt.

Was geschieht mit den Stengel- und Blattsymptomen in den verschiedenen pH-Bereichen, wenn wir den Tomatensprossen eine Fusarinsäuremenge verabreichen, die um einen geringen Betrag oberhalb der dosis minima liegt? In diesem Falle entsteht eine Intensitätsverteilung, wie sie in Tabelle 6 wiedergegeben wurde.

Tabelle 6

Der Einfluß des pH der Toxinlösung auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen. Die in diesen Versuchen verwendete Fusarinsäure stammt aus Kulturen des *Fusarium lycopersici* Sacc. Verabreichte Toxinmenge 225 mg je kg Lebendgewicht

Reaktion der Toxinlösung pH	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Blätter
4.3	1.4	2.2
5.0	0.8	2.0
6.5	0	2.2
7.6	0	2.6

Die Stengelsymptome bleiben nach wie vor pH-gebunden und verschwinden auch in diesem Versuch wieder im Reaktionsbereich oberhalb

pH 6.0. Dagegen werden die Blatt symptome durch das Verschwinden der Stengelsymptome nicht mehr beeinflußt; sie bleiben also, wenn ein gewisser Überschuß an Toxin zugeführt wird, im gesamten geprüften pH-Bereich gleich stark ausgeprägt.

Dies läßt vermuten, daß sich die Blatt- und die Stengelsymptome in der Nähe der dosis minima konkurrenzieren und daß infolgedessen, wenn die Stengelsymptome ausbleiben, die Intensität der Blattsymptome noch um einen gewissen Betrag über das bisherige Niveau hinaus zunehmen kann. Liegt dagegen die verabreichte Fusarinsäuredosis oberhalb der dosis minima, so reicht die zugeführte Toxinmenge auf jeden Fall aus, um eine bestimmte Intensität der Blattsymptome auszulösen, unabhängig davon, ob (je nach dem pH der Toxinlösung) auch im Stengel noch Symptome auftreten oder nicht.

Abb. 9. Das Welkebild der Fusarinsäure an jungen Tomatensprossen, wenn das pH der verabreichten Toxinlösung auf 6.2 eingestellt wurde. ½ nat. Gr.

Wir fragen uns nunmehr: Besteht dieser pH-gebundene Schädigungseffekt nur bei Tomatensprossen, oder tritt er auch bei andern Blütenpflanzen auf? Wir wählten als Objekt die Baumwolle, *Gossypium herbaceum*, da ja das *Fusarium vasinfectum*, der Erreger der Baumwollwelke, ebenfalls, wie das *Fusarium lycopersici*, Fusarinsäure zu bilden vermag.

Da keine hinreichend alten Baumwollsträucher zur Verfügung standen, wurden die Versuche mit jungen, 10 bis 15 cm hohen Keimpflanzen, die erst Primärblätter trugen, durchgeführt (Abb. 11 und 12). Doch sind die Symptome der Fusarinsäure an derartigen Baumwollpflänzchen, wie wir in § 9 kurz darlegen werden, anders beschaffen als bei Tomatensprossen, und auch die Sensibilität der Baumwollpflänzchen für Fusarinsäure ist etwa 10mal höher als diejenige der Tomatensprosse; wir beschränken uns deshalb im vorliegenden Zusammenhang auf die summarische Wiedergabe und Besprechung der Tabelle 7.

Die Werte für die einzelnen Pflanzen schwanken innerhalb jeder Serie (20 Stück) sehr stark; dennoch läßt Tabelle 7 vermuten, daß das Problem der pH-gebundenen Aktivität der Fusarinsäure in irgendeiner Form auch

Tabelle 7

Der Einfluß des pH der verabreichten Toxinlösung auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Baumwollpflanzen. Im vorliegenden Versuch wurde Fusarinsäure in der Konzentration von 10^{-3} molar verwendet, 36 mg Fusarinsäure je kg Frischgewicht

Reaktion der Toxinlösung pH	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Primärblätter
4.3	2.0	1.0
5.0	1.8	1.3
5.6	1.5	0.9
6.2	1.5	1.0
6.8	1.5	0.7
7.5	1.5	0.6

bei den jungen Baumwollpflanzen besteht; denn sowohl bei den Stengeln als bei den Primärblättern nimmt die Wirksamkeit der Fusarinsäure mit steigendem pH ab. Da jedoch die anatomischen und versuchstechnischen Voraussetzungen bei den Baumwoll-Keimpflänzchen völlig anders liegen als bei den Tomatensprossen, so verschieben wir den weiteren Ausbau dieser Teilfrage auf später und kehren wieder zu den Tomatensprossen zurück.

Hier stellt sich nun die folgende Frage: Ist die pH-gebundene Aktivität der Fusarinsäure eine Eigentümlichkeit der biogenen, vom *Fusarium lycopersici* usw. gebildeten Fusarinsäure, oder tritt derselbe Effekt auch bei der synthetischen Fusarinsäure auf?

In Tabelle 8 erhielten die Versuchspflanzen, wie in Tabelle 4 und 5, die Fusarinsäure in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht, und zwar wiederum in der Menge von 150 mg je kg Lebendgewicht. Tabelle 8 läßt erkennen, daß derselbe Stengeleffekt, der in Tabelle 5 und 6 im sauren Bereich für die biogene Fusarinsäure beobachtet wurde, auch bei der synthetischen Fusarinsäure auftritt. Der Stengeleffekt im pH-Bereich unterhalb 6.0 ist somit nicht eine Eigentümlichkeit der biogenen Fusarinsäure.

Tabelle 8

Die Symptomausprägung von synthetischer Fusarinsäure an jungen Tomatensprossen bei verschiedenem pH. Verabreichte Toxinmenge 150 mg je kg Lebendgewicht

Toxinlösung	pH	Durchschnittliche Schädigung	
		Stengel	Blätter
Synthetische Fusarinsäure allein	4.3	1.7	1.2
Synthetische Fusarinsäure + KOH	7.5	0	1.5

Da diese pH-gebundene Stengelaktivität der Fusarinsäure etwas sehr Ungewohntes und Sonderbares darstellt, legten wir uns die Frage vor: Wird

eine stengelinaktive Fusarinsäurelösung vom pH 7.5 (eingestellt mit KOH) wieder stengelaktiv, wenn das pH durch Beigabe von HCl wieder auf den ursprünglichen Stand gebracht wird?

Vorgehen. Eine $2.5 \cdot 10^{-3}$ molare Fusarinsäurelösung vom pH 4.3 wird mit KOH auf pH 7.5 eingestellt und eine Woche im Kühlschrank aufbewahrt; dann wird die eine Hälfte der Lösung mittels HCl wieder auf pH 4.3 gebracht. Beide Lösungen (vom pH 7.5 und vom pH 4.3) werden nunmehr gleichzeitig nebeneinander mit jungen Tomatensprossen getestet. Das Ergebnis ist in Tabelle 9 wiedergegeben.

Tabelle 9

Die Reversibilität des Stengeleffektes von Fusarinsäure, gewonnen aus Kulturen des *Fusarium lycopersici* Sacc. Verabreichte Toxinmenge 150 mg je kg Lebendgewicht. Erklärung im Text

Toxinlösung	pH	Durchschnittliche Schädigung	
		Stengel	Blätter
Fusarinsäure + KOH	7.5	0	1.6
Fusarinsäure + KOH + HCl	4.3	1.5	0.6

Ergebnis. Der Stengeleffekt der Fusarinsäure bei Tomatensprossen ist vollkommen reversibel und tritt auch dann ein, wenn eine durch Kalilauge stengelinaktiv gemachte Fusarinsäurelösung mittels Salzsäure wieder auf das ursprüngliche pH gebracht wird. In Tabelle 9 ist die Schädigung der Laubblätter bei der wieder angesäuerten Fusarinsäurelösung auffallend gering (durchschnittliche Intensität 0.6); es handelt sich offenbar um ein Zufallsergebnis, ausgelöst durch chemische Umsetzungen in der Toxinlösung.

Zusammenfassend geht aus dem vorliegenden Kapitel hervor, daß die aktuelle Azidität der verabreichten Toxinlösung tatsächlich das durch die Fusarinsäure an Tomatensprossen ausgelöste Krankheitsbild qualitativ zu verschieben vermag: nur Blatteffekte und keine Stengeleffekte bei Aziditäten oberhalb pH 6.0, und ein Auftreten und Zunehmen der Stengeleffekte (bei andauerndem Weiterbestehen der Blatteffekte), wenn die Azidität der verabreichten Toxinlösung von pH 6.0 auf pH 4.3 sinkt.

Zwischen der Intensität der Blattsymptome und der Intensität der Stengelsymptome besteht — falls den Versuchssprossen nur ungefähr die dosis minima an Fusarinsäure verabreicht wird — insofern eine gewisse Beziehung, als die Blattsymptome an Intensität noch etwas gewinnen, falls die Stengelsymptome aus pH-Gründen abnehmen oder gänzlich ausbleiben. Wird dagegen den Versuchssprossen eine etwas größere Toxinmenge als nur die dosis minima zugeführt, so spricht die Intensität der Blattsymptome auf das Vorhandensein oder Fehlen der Stengelsymptome nicht mehr an.

Wie ist dieser sonderbare Befund zu erklären? Der nächstliegende Gedanke war, daß die Fusarinsäure unstabil sei und im pH-Bereich oberhalb 6.0 desaktiviert werde. Derartige pH-gebundene Wirkungsgrenzen sind bei

einigen Antibiotica bekannt; und zwar kann bei ihnen das pH des Testmediums entweder (a) das Antibioticum selbst, oder (b) die Reaktion zwischen Antibioticum und Mikroorganismus beeinflussen. Beispiele:

Zu a: Aureomycin und Terramycin sind recht beständig in saurer Lösung (Optimum pH 2.5), hingegen unbeständig bei einem pH über 7. Infolge dieser Alkaliempfindlichkeit sind z. B. für gewisse Mikroorganismen bei pH 8 64mal höhere Aureomycin-Konzentrationen erforderlich als bei pH 6. Penicillin in wässeriger Lösung ist am beständigsten bei pH 6.0 bis 6.8; bei einem pH kleiner als 5 oder größer als 8 wird es rasch zerstört.

Zu b: Streptomycin, das in einem weiten pH-Bereich beständig ist, zeigt zunehmende Aktivität mit zunehmendem pH (z. B. von pH 6 bis pH 8). Dies gilt vermutlich allgemein für antibiotische Basen, während für antibiotische Säuren (z. B. Penicillin) in einem gewissen pH-Bereich das Umgekehrte zutrifft, steigende Aktivität mit steigender Wasserstoffionenkonzentration.

Angesichts dieser Verhältnisse bei den Antibiotica, von denen ja manche bei Blütenpflanzen ebenfalls als Welketoxine wirken, war es nicht abwegig, zu vermuten, daß die Fusarinsäure mit zunehmender Alkalinität des Mediums (oberhalb pH 6.0) desaktiviert werden könnte.

Dem stehen jedoch zwei Erwägungen entgegen. Zunächst ist zu beachten, daß die Fusarinsäure auch oberhalb pH 6.0 auf die Tomaten b l ä t t e r in gleichbleibender Weise einwirkt; nur die Tomaten s t e n g e l passiert sie in diesem pH-Bereich, ohne daß die Stengelgewebe Symptome zeigen. Das Ausbleiben der Stengelsymptome (und nur dieser) kann somit nicht durch eine summarische Desaktivierung der Fusarinsäure verursacht worden sein.

Gegen die Annahme einer summarischen Desaktivierung der Fusarinsäure sprechen ferner die Beobachtungen im Sporenkeimungstest. Die Isolierung der Fusarinsäure war ja seinerzeit an Hand des Keimungstestes mit Brandsporen von *Ustilago zeae* durchgeführt worden, und zwar deshalb, weil dieser Test (entgegen dem unmittelbaren Welketest) auf die chemischen Aufarbeitungsstufen stets sinnvoll ansprach. Es war deshalb gegeben, die Frage einer eventuellen Desaktivierung der Fusarinsäure auch an Hand dieses Testes zu überprüfen.

Tabelle 10

Der Einfluß des pH einer F u s a r i n s ä u r e lösung auf die Keimungs-Hemmung der Brandsporen von *Ustilago zeae*. Versuchsfrage: Bei welcher Fusarinsäurekonzentration wird bei den verschiedenen Aziditäten die LD_{50} erreicht? Erklärung im Text

pH der geprüften Toxinlösung	1. Versuch molar	2. Versuch molar
4.3	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.1 \cdot 10^{-4}$
5.0	$1.0 \cdot 10^{-4}$	$1.6 \cdot 10^{-4}$
6.5	$1.2 \cdot 10^{-4}$	$0.9 \cdot 10^{-4}$

In Tabelle 10 wurde in zwei Versuchsreihen auf dem Verdünnungswege ermittelt, bei welcher Fusarinsäure-Konzentration in den drei dort genannten pH-Stufen die LD_{50} erreicht wird. Die erste Versuchsreihe wurde mit einer Fusarinsäure-Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar begonnen, die zweite Versuchsreihe mit einer solchen von $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar.

Wir sehen: Die Toxizität der Fusarinsäure für Brandsporen von *Ustilago zeae* bleibt sich im geprüften pH-Bereich ungefähr gleich; die Dimension, bei der die LD_{50} erreicht wird, erfährt in Tabelle 10 keine Verschiebung.

Da es somit, im Gegensatz zu einigen obengenannten Antibiotica, nicht eine pH-bedingte Schädigung der Toxizität der Fusarinsäure sein kann, welche bei Tomatensprossen im pH-Bereich von 4.3 bis 6.8 die gegenläufige Verschiebung der Blatt- und der Stengeleffekte (bis zum völligen Verschwinden der letztern) zuwegbringt, so müssen die Ursachen dieser Verschiebung wohl im Dissoziationssektor zu suchen sein.

Fusarinsäure ist eine schwache einbasische Säure. Eine $2.5 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung hat ein pH von 4.3. Daraus errechnet sich nach der Formel $pK = 2\,pH + \log c$ die Dissoziationskonstante K zu 10^{-6}. Fusarinsäure ist also eine noch schwächere Säure als die Essigsäure ($K = 1.8 \cdot 10^{-5}$).

Mit Hilfe der Formel $pH - pK = \log \frac{\alpha}{1 - \alpha}$ läßt sich der Dissoziationsgrad der Fusarinsäure als Funktion des pH berechnen:

pH	Dissoziationsgrad %
4.3	zka 2
5.6	zka 30
6.0	50
6.8	zka 86
8.7	100

In der ursprünglichen Fusarinsäurelösung vom pH 4.3 ist demnach nur jedes 50. Molekül dissoziiert. Bei pH 6.0 ist es jedes zweite, und bei pH 8.7 ist die Dissoziation vollständig.

Nach Angaben in Small (1929, S. 323) dringen starke Säuren nur schwer durch die Plasmahaut in das Zellinnere. Es scheint somit, daß negativ geladene Teilchen (Säure-Ionen) Mühe haben, die Plasmahaut zu passieren, während neutralen oder nahezu neutralen Teilchen wie den Fusarinsäuremolekeln wenig Widerstand entgegengestellt wird. Falls diese Betrachtungsweise richtig ist, so müßte die (bei pH 6.8) 43mal stärker dissoziierte Fusarinsäure nur schwer in das Zellinnere gelangen, verglichen mit der bei pH 4.3 43mal schwächer dissoziierten Lösung.

Die Sachlage würde sich dann wie folgt gestalten. Nachdem die Fusarinsäurelösung durch die Leitungsbahnen des Stengels und der Blattstiele hochgesogen worden ist, tritt sie an Stelle des Transpirationsstromes in die Zellwände der Grundgewebe hinaus und umspült dort die Protoplasten. Der Entscheid, in welchem Ausmaß ihre Teilchen aus den Zellwänden durch die Plasmahaut hindurch in das Zellinnere (als dem Ort ihrer spezifischen Wirk-

samkeit) gelangen können, hängt von ihrer Permeierungsfähigkeit ab, und diese wird ihrerseits durch die Dissoziationsverhältnisse gesteuert.

Bei einer Reaktion unterhalb pH 6.0, also in einem verhältnismäßig schwach dissoziierten Zustande, wandern verhältnismäßig viele Fusarinsäuremolekel (weil nicht dissoziiert) aus den Zellwänden durch die Plasmahaut in das Zellinnere. Deshalb vermögen sie auch in den Grundgewebe- und Rindenzellen des Stengels, die ja mehr oder weniger abseits vom Transpirationsstrom liegen, die kritische Konzentrationsschwelle zu überschreiten und manifeste Schädigungen (Rillenbildung usw.) auszulösen.

Durch diesen Fusarinsäurekonsum der Stengelgewebe wird jedoch ein Teil des zur Verfügung stehenden Toxines, das sonst den Blättern zugekommen wäre, verbraucht; wir verabreichen ja den Versuchssprossen mit den 150 mg je kg Lebendgewicht nur ungefähr die dosis minima, die Toxinmenge ist somit gewissermaßen im Minimum; deshalb konkurrenzieren sich der Fusarinsäure-„Bedarf" des Stengels und der der Blätter: die Fusarinsäure, die in den Grundgewebe- und Rindenzellen des Stengels verbraucht wurde, bleibt dem Blattwerk entzogen; deshalb muß in den Blättern, falls Stengelsymptome auftreten, eine gewisse Depression der Symptome einsetzen. Dies ist in Tabelle 4 und 5 tatsächlich der Fall.

Bei einer Reaktion oberhalb pH 6.0, also in einem stark dissoziierten Zustande (denn weit über 50 % der Fusarinsäuremolekel sind nunmehr dissoziiert), gelingt die unmittelbare Penetration von den Zellwänden her durch die Plasmahaut in das Zellinnere nur verhältnismäßig wenig Fusarinsäureteilchen; weder in den Zellen des Stengels noch in denen der Blattgewebe erreicht deshalb die Fusarinsäure-Konzentration ohne weiteres die kritische Grenze; doch greift nunmehr in den Blattgeweben (dagegen nicht in den wenig transpirierenden Stengelgeweben) die Transpiration ein; sie läßt einen Teil des Lösungswassers wegverdunsten; dadurch wird die Fusarinsäurelösung in den Zellwänden der Blätter „künstlich" angereichert. Bei einer Zunahme der Konzentration geht jedoch bei einer schwachen Säure wie der Fusarinsäure die Dissoziation rasch zurück, und es entstehen wieder neutrale Teilchen, die nunmehr durch die Plasmahaut in das Zellinnere zu dringen vermögen und dort den Wirt schädigen.

In den Stengeln mit ihrer geringen Transpiration findet dagegen diese „künstliche" Anreicherung der Toxinlösung nicht statt; deshalb wird in den Zellwänden der Stengelgewebe die starke Dissoziierung der Toxinlösung nicht rückgängig gemacht, und deshalb fällt es den Fusarinsäureteilchen (weil bei einem pH oberhalb 6.0 stets zu stark dissoziiert) in den Stengelgeweben nach wie vor schwer, aus den Zellwänden durch die Plasmahaut in das Zellinnere zu gelangen; die kritische Giftkonzentration wird infolgedessen in den Protoplasten der Stengelgewebe nicht erreicht, und es kommt dementsprechend in den Stengeln nicht zur Ausprägung manifester Schädigungssymptome.

Da wegen dieses geringeren Fusarinsäure-Konsums der Stengelgewebe nur verhältnismäßig wenig Toxin verbraucht wird, so steht für das Blatt-

werk ein entsprechend höherer Anteil zur Verfügung; dadurch wird verständlich, daß in Tabellen 4 und 5 in dem pH-Bereich, in welchem keine Stengelsymptome auftreten, die Schädigung des Blattwerkes etwas größer ist.

Wir sind uns bewußt, daß diese Betrachtungen den zur Diskussion stehenden Problemkomplex nur in erster Annäherung zu erklären vermögen, und daß die Dinge in Wirklichkeit erheblich komplizierter liegen. So vermuten wir auf Grund kursorischer Beobachtungen, daß der kritische Umschlagspunkt für die Azidität der Toxinlösung nicht zu allen Jahreszeiten bei pH 6.0 liegt; sondern es scheint, daß sich in den Tomatensprossen der isoelektrische Punkt des Plasmas im Laufe des Jahres verschiebt; wir haben beispielsweise im Herbst Versuche durchgeführt, bei denen die Stengelsymptome schon bei pH 5.0 verschwanden; doch müßten diese Versuche mit größeren Zahlen und unter allen notwendigen Kautelen wiederholt werden.

Ferner sind wir uns bewußt, daß in den vorliegenden Problemkreis auch Fragen der Gewebespezifität hereinspielen; dies erhellt schon daraus, daß ja die Leitungsbahnen selbst durch die Fusarinsäure nicht geschädigt werden, sondern nur Grundgewebezellen, und auch diese nur in bestimmten Grundgeweben, deren Protoplasten vielleicht andere Pufferungsverhältnisse oder sonstwie andere Voraussetzungen oder Sensibilitäten aufweisen als die übrigen. Das ganze Problem ist also zweifelsohne unendlich komplizierter als wir es heute darzustellen vermögen.

§ 6. Das Zusammenwirken von Fusarinsäure und Bernsteinsäure

Beim Suchen nach dem noch unbekannten dritten Toxin, das wahrscheinlich vom *Fusarium lycopersici* gebildet wird und in spezifischer Weise die L e i t u n g s b a h n e n der Tomatensprosse schädigt, stießen wir in den aufzuarbeitenden Kulturfiltraten auf die Bernsteinsäure, die vom *Fusarium lycopersici* zu gleicher Zeit und neben dem Lycomarasmin und der Fusarinsäure produziert wird.

Um es vorwegzunehmen: Die Bernsteinsäure ist mit dem gesuchten dritten, gewebespezifischen Toxin n i c h t identisch, sondern sie ist, wie entsprechende Versuche zeigten, für sich allein biologisch belang- bzw. wirkungslos; aber es lag nahe zu fragen, welche Rolle sie in Verbindung mit den zwei bereits für das *Fusarium lycopersici* bekannten Toxinen im Krankheitsgeschehen spiele.

Antwort: Sie wirkt insbesondere mit der F u s a r i n s ä u r e zusammen und verändert das pH der Wirtsgewebe in der für die Auswirkung der Fusarinsäure günstigen Richtung. Bernsteinsäure ist eine schwache organische Säure, etwas schwächer als Essigsäure, doch immerhin etwas stärker als Fusarinsäure, und sie vermag deshalb, wenn gleichzeitig mit der Fusarinsäure und neben ihr in die Leitungsbahnen des Wirtes ausgeschüttet, die Reaktion des Substrates nach der sauren Seite hin zu verschieben; dadurch wird aber nach Tabelle 4 und 5 der Wirkungsgrad der Fusarinsäure erheblich gesteigert.

Daß die nebenher gehende Bernsteinsäure wirklich einen erheblichen Einfluß auf die Pathogenität der Fusarinsäure auszuüben vermag, haben wir zu unserem Leidwesen an unserer eigenen Arbeit erfahren. Die Bernsteinsäure schlüpfte nämlich bei unsern Isolierungsversuchen lange Zeit in größern oder kleinern Mengen unerkannt in den fusarinsäurehaltigen Kulturfiltratfraktionen mit, veränderte dadurch das pH der Testlösung und bewirkte auf diese Weise, daß scheinbar zusammenhangslos bald undeutliche, bald keine, bald deutliche Stengelsymptome auftraten. Und als wir das Vorhandensein von Bernsteinsäure in unsern noch ungenügend reinen Fusarinsäurepräparaten erkannten, mußten wir zunächst annehmen, es liege ein besonderes synergistisches Zusammenwirken zwischen Fusarinsäure und Bernsteinsäure vor (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952); erst am Schluß, als Fusarinsäure in völlig reiner und überdies auch in synthetischer Form vorlag, erkannten wir, daß der modifizierende Effekt nicht spezifisch an die Bernsteinsäure gebunden ist, sondern bloß auf einer Verschiebung des pH der Toxinlösung durch die Bernsteinsäure beruht.

Dies möchten wir an Hand von zwei Versuchsgruppen zeigen:

a) Verändern wir das pH der Fusarinsäurelösung mittels KOH, so verhalten sich die Tomatensprosse bei einem bestimmten pH gleich, unabhängig davon, ob Bernsteinsäure in der Toxinlösung vorhanden ist oder nicht; und

b) die LD_{50} der Fusarinsäure für die Brandsporen von *Ustilago zeae* wird durch die Gegenwart von Bernsteinsäure nicht beeinflußt.

a) Das Verhalten der Tomatensprosse bei verschiedenem pH der verabreichten Fusarinsäurelösung

In Tabelle 11 und 12 erhielten die Tomatensprosse zwei biogene Fusarinsäuren von verschiedener Provenienz zugeführt, und zwar 150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar; bei der einen Hälfte der Versuchsgruppe enthielt die Toxinlösung nur Fusarinsäure; bei der anderen Hälfte enthielt sie überdies Bernsteinsäure in der Konzentration von $2.0 \cdot 10^{-3}$ molar (so daß die Tomatensprosse 75 mg

Tabelle 11

Der Wirkungsgrad der vom *Fusarium vasinfectum* gebildeten Fusarinsäure bei verschiedenem pH, in Abwesenheit oder in Gegenwart von Bernsteinsäure. Testobjekt: junge Tomatensprosse. Erklärung im Text

Azidität pH	Schädigung der Stengel		Schädigung der Blätter	
	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure
4.3	1.4 ± 0.51	1.7 ± 0.61	0.9 ± 0.50	1.2 ± 0.48
5.0	1.5 ± 0.51	1.5 ± 0.51	0.8 ± 0.33	0.7 ± 0.27
5.6	0.7 ± 0.60	0.9 ± 0.39	1.3 ± 0.47	0.8 ± 0.47
6.2	0	0	1.7 ± 0.63	1.6 ± 0.58
6.8	0	0	2.1 ± 0.67	1.5 ± 0.74

Tabelle 12

Der Wirkungsgrad der von der *Gibberella Fujikuroi* gebildeten Fusarinsäure bei verschiedenem pH, in Abwesenheit oder in Gegenwart von Bernsteinsäure. Testobjekt: junge Tomatensprosse. Erklärung im Text

Azidität pH	Schädigung der Stengel		Schädigung der Blätter	
	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure	ohne Bernsteinsäure	mit Bernsteinsäure
4.3	1.7 ± 0.60	1.8 ± 0.57	0.9 ± 0.38	0.9 ± 0.38
5.0	1.3 ± 0.49	1.6 ± 0.63	0.7 ± 0.48	0.8 ± 0.45
5.6	1.0 ± 0.37	0.9 ± 0.34	0.8 ± 0.53	0.5 ± 0.23
6.2	0	0	1.4 ± 0.44	1.5 ± 0.47
6.8	0	0	1.6 ± 0.68	1.4 ± 0.47

Bernsteinsäure je kg Lebendgewicht aufnahmen). Die verschiedenen pH-Stufen wurden mit KOH eingestellt. Es handelt sich zum Teil um dieselben Versuchsgruppen, aus denen wir einige Ergebnisse schon in Tabelle 4 und 5 mitgeteilt haben. Die Zahlen sind Durchschnittswerte aus je 15 Versuchspflanzen; die Streuungen wurden nach Linder berechnet.

Wir sehen: Die Gegenwart von Bernsteinsäure vermag die Pathogenität der Fusarinsäure für Tomatensprosse nicht zu verändern, sofern nur das pH der Toxinlösung konstant gehalten wird.

b) Die LD_{50} für die Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae*. Wir haben seinerzeit an Hand von Tabelle 10 festgestellt, daß die Toxizität der Fusarinsäure für die Brandsporen von *Ustilago zeae* sich im geprüften pH-Bereich ungefähr gleich bleibt; denn die Konzentration, bei der die LD_{50} erreicht wird, erfährt in den verschiedenen pH-Stufen keine wesentliche Verschiebung. In Tabelle 13 haben wir dieselbe Frage bei Anwesenheit oder Fehlen von Bernsteinsäure geprüft. Beim 1. Versuch betrug die Ausgangskonzentration $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar Fusarinsäure bzw. $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar Fusarinsäure + $2.0 \cdot 10^{-3}$ molar Bernsteinsäure, beim 2. Versuch $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar Fusarinsäure bzw. $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar Fusarinsäure + $4.0 \cdot 10^{-3}$ molar Bernsteinsäure.

Tabelle 13

Der Einfluß des pH einer Fusarinsäurelösung auf die Keimungs-Hemmung der Brandsporen von *Ustilago zeae*, in Abwesenheit oder in Gegenwart von Bernsteinsäure. Versuchsfrage: Bei welcher Fusarinsäurekonzentration wird bei den verschiedenen Aziditäten, mit oder ohne Bersteinsäure, die LD_{50} erreicht?

pH der verwendeten Toxinlösung	1. Versuch		2. Versuch	
	nur Fusarinsäure molar	Fusarinsäure + Bernsteinsäure molar	nur Fusarinsäure molar	Fusarinsäure + Bernsteinsäure molar
4.3	$0.96 \cdot 10^{-4}$	—	$1.09 \cdot 10^{-4}$	$1.09 \cdot 10^{-4}$
5.0	$1.04 \cdot 10^{-4}$	$1.14 \cdot 10^{-4}$	$1.56 \cdot 10^{-4}$	$1.43 \cdot 10^{-4}$
6.5	$1.19 \cdot 10^{-4}$	$0.78 \cdot 10^{-4}$	$0.91 \cdot 10^{-4}$	$1.39 \cdot 10^{-4}$

Wir sehen: Auch gegenüber den Brandsporen von *Ustilago zeae* bleibt sich die Toxizität der Fusarinsäure in den verschiedenen pH-Stufen der Dimension nach gleich, unabhängig davon, ob Bernsteinsäure in der Toxinlösung vorhanden ist oder nicht. Es besteht somit auch gegenüber der Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae* kein besonderes spezifisches Zusammenwirken zwischen der Fusarinsäure und der Bernsteinsäure.

Die Mitwirkung der Bernsteinsäure bei der Steigerung der Pathogenität der Fusarinsäure beschränkt sich also tatsächlich auf eine Veränderung des pH der Wirtsgewebe.

Wenn dem wirklich so ist, dann müssen auch andere organische Säuren als Bernsteinsäure dieselbe Verschiebung des Stengeleffektes bei Tomatensprossen auszulösen vermögen. In Tabelle 14 teilen wir ein diesbezügliches experimentum crucis mit, in welchem die Tomatensprosse die Fusarinsäure statt in Gegenwart von Bernsteinsäure in Gegenwart von Apfelsäure aufnahmen. Sie erhielten nämlich gleichzeitig 150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar und 75 mg Apfelsäure je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $1.67 \cdot 10^{-3}$ molar zugeführt; die beiden pH-Stufen wurden mittels KOH eingestellt. Da aus Gründen der Arbeitsökonomie jede Stufe nur zehn Pflanzen umfaßte, geben wir bloß die Mittelwerte ohne Streuung wieder.

Tabelle 14

Der Wirkungsgrad von Fusarinsäure bei verschiedenem pH, in Gegenwart von Apfelsäure.
Testobjekt: junge Tomatensprosse. Erklärung im Text

Azidität pH	Durchschnittliche Schädigung der	
	Stengel	Blätter
4.3	2.2	1.3
7.5	0	1.9

Wir sehen: In Tabelle 11 betragen die Stengelschädigungen von Fusarinsäure + Bernsteinsäure bei pH 4.3 1.7 ± 0.61, und die Blattschädigungen 1.2 ± 0.48, in Tabelle 12 1.8 ± 0.57 bzw. 0.9 ± 0.38, und in Tabelle 14 betragen die durchschnittlichen Stengelschädigungen von Fusarinsäure + Apfelsäure bei pH 4.3 2.2 und die Blattschädigungen 1.3. Und bei pH 6.8 betragen in Tabelle 11 für Fusarinsäure + Bernsteinsäure die Stengelschädigungen null und die Blattschädigungen 1.5 ± 0.74 und in Tabelle 12 null bzw. 1.4 ± 0.47, und in Tabelle 14 betragen für Fusarinsäure + Apfelsäure die Stengelschädigungen bei pH 7.5 null und die Blattschädigungen 1.9.

Die Verschiebungen der Stengel- und der Blatteffekte erfolgen somit beim Fusarinsäure-Apfelsäure-Gemisch in gleichem Sinne wie beim Fusarinsäure-Bernsteinsäure-Gemisch, womit bewiesen ist, daß die Bernsteinsäure nicht unmittelbar als solche am Reaktionsgeschehen teilnimmt,

sondern nur mittelbar durch eine Beeinflussung des pH der Toxinlösung bzw. des Substrates, in welchem das Toxin, eben die Fusarinsäure, zur Auswirkung gelangt.

§ 7. Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Ausprägung der Krankheitssymptome

Wie wir schon auf S. 13 kurz andeuteten, werden die durch die Fusarinsäure an Tomatensprossen ausgelösten Schädigungssymptome nicht nur durch das pH der verabreichten Toxinlösung quantitativ und qualitativ verschoben, sondern überdies auch durch die Menge des verabreichten Toxines. Tabelle 15 gibt den kursorisch durchgeführten Versuch wieder, der uns zu dieser Erkenntnis führte.

Tabelle 15

Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen.
Konzentration der verabreichten Toxinlösung $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar

Verabreichte Toxinmenge in mg je kg Frischgewicht	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Blätter
	Reaktion der Toxinlösung pH 4.3	
100	0.9	1.1
150	1.6	1.9
300	2.6	2.5
	Reaktion der Toxinlösung pH 5.0	
100	0.8	1.3
150	1.1	1.4
300	2.3	2.4
	Reaktion der Toxinlösung pH 6.5	
100	0	1.1
150	0	2.4
300	1.2	2.6

Bei den Versuchen für Tabelle 15 wurden zwei saure pH-Stufen verwendet, nämlich pH 4.3 und 5.0, und sodann eine pH-Stufe, die deutlich jenseits des Umschlagspunktes lag, bei welchem nach Tabelle 4 und 5 an den Tomatensprossen Stengelsymptome aufzutreten pflegen, nämlich pH 6.5. In jeder pH-Stufe wurden drei verschiedene Toxinmengen verabreicht, nämlich 100, 150 und 300 mg je kg Frischgewicht.

Die sauren pH-Stufen der Tabelle 15 bieten nichts besonderes; sie bestätigen bloß die alte Erfahrung, daß die Intensität einer Vergiftung in einem gewissen Bereich mit der Steigerung der Toxinmenge zunimmt. Wichtig schien uns dagegen das Verhalten der Tomatensprosse bei der Reaktion von pH 6.5 zu sein, weil hier die quantitative Verschiebung der Schädigungssymptome in eine qualitative Verschiebung umschlägt: keine Stengelsymptome

bei den Toxingaben von 100 und 150 mg je kg Frischgewicht, und deutlich erkennbare Stengelsymptome bei der doppelt so hohen Toxingabe (300 mg je kg Frischgewicht). Das Auftreten der Stengelsymptome kann somit bei den Tomatensprossen auch oberhalb des Umschlagspunktes von pH 6.0 durch Verabreichung genügend großer Toxinmengen erzwungen werden.

Falls dieser Mengeneffekt zu recht besteht, so würde er einen indirekten Beweis für die Richtigkeit der auf S. 21 u. f. entwickelten Theorie über die Ursache des schwankenden Verhaltens der Stengelsymptome bilden. Wir haben deshalb den entscheidenden Versuch in Tabelle 16 und 17 wiederholt.

Tabelle 16

Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen.
Konzentration der verabreichten Toxinlösung $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar

Reaktion der Toxinlösung pH	Verabreichte Toxinmenge in mg je kg Frischgewicht	Durchschnittliche Schädigung der		Durchschnittl. Aufnahmezeit in Minuten
		Stengel	Blätter	
4.3	75	1.1	0.5	70
	150	2.0	1.5	140
	225	2.6	1.7	210
	300	3.0	2.8	330
6.5	75	0	1.0	135
	150	0.1	1.2	280
	225	0.8	2.0	450
	300	0.8	3.2	600

In Tabelle 16 erhielten die Versuchspflanzen (es sind in beiden Tabellen ihrer 20 je Stufe) die Fusarinsäure in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ normal (es ist dies die übliche Konzentration, mit der wir arbeiten) verabreicht, und zwar eingestellt auf pH 4.3 bzw. pH 6.5.

Die durchschnittliche Aufnahmezeit, d. i. die Zeit, welche die einzelnen Versuchssprossen benötigen, um die 75, 150 usw. mg Toxin je kg Lebendgewicht aufzunehmen, ist bei pH 4.3 nur etwa halb so groß wie bei pH 6.5. Diese Beobachtung, daß die Aufnahmedauer mit zunehmender Alkalinität der Toxinlösung zunimmt, hat sich auch in andern, hier nicht mitgeteilten Versuchsreihen bestätigt.

Die Intensität der Stengel- und der Blattsymptome steigt in Tabelle 16 im sauren pH-Bereich (4.3) bei steigenden Toxingaben in der üblichen Weise an, die Stengelsymptome von 1.1 auf 3.0 und die Blattsymptome von 0.5 auf 2.8. Der Sprung der Blattsymptome von 1.7 auf 2.8, wenn die verabreichte Toxinmenge von 225 auf 300 mg je kg Lebendgewicht gesteigert wird, dürfte nicht ausschließlich auf eine unmittelbare Toxinwirkung zurückgehen, sondern sie ist wahrscheinlich mittelbar durch die Schädigung des Stengels mitbedingt. Wenn nämlich bei den Tomatensprossen der Stengel

stark toxigen geschädigt wird (Intensität oberhalb der Stufe 2), so bleibt er funktionell zurück oder scheidet gänzlich aus; dadurch wird aber die Zufuhr zu den Blättern gedrosselt oder gänzlich unterbunden. In derartigen Fällen setzt sich deshalb die Schädigung der Blätter aus zwei Komponenten zusammen, einerseits aus der unmittelbaren Schädigung der Blätter durch das Toxin selbst, und anderseits aus der mittelbaren Schädigung der Blätter infolge des Zurückbleibens oder Ausscheidens des Stengels.

Wenn also in Tabelle 16 die durchschnittlichen Blattsymptome von 1.5 auf 1.7 ansteigen, wenn die Toxinmenge von 150 auf 225 mg je kg Lebendgewicht ansteigt, und dann von 1.7 auf 2.8, wenn die verabreichte Toxinmenge von 225 auf 300 mg je kg Lebendgewicht erhöht wird, so ist dieser zweite, unverhältnismäßig hohe Sprung offensichtlich eine mittelbare Folge der überstarken Schädigung des Stengels.

Im stärker alkalischen pH-Bereich (6.5) treten in Tabelle 16 (und darauf kommt es hier an) bei niederen Toxingaben (75 mg je kg Lebendgewicht) keine Stengelsymptome auf. Auch bei der Toxingabe von 150 mg je kg Lebendgewicht sind die Stengelsymptome noch zu vernachlässigen; denn eine durchschnittliche Schädigungsintensität von 0.1 ist derart gering, daß nur der geübte Spezialist zuverlässig eine charakteristische Schädigung zu erkennen vermag.

Läßt man nun die Toxingabe bei gleichbleibendem pH noch weiter ansteigen, so treten, wie in Tabelle 15, oberhalb einer bestimmten Schwelle wieder deutliche Stengelsymptome auf. Dadurch bestätigt sich die Richtigkeit der S. 21 u. f. vorgetragenen Auffassung über die Natur des pH-gebundenen Stengeleffektes: Bei der Verabreichung nur der dosis minima sind bei einem pH von 6.5 zu wenig undissoziierte Toxinmolekel, welche durch die Plasmahaut zu diffundieren vermögen, in der Lösung vorhanden, und es kommt infolgedessen nicht zur Ausbildung von Stengelsymptomen ; wird dagegen die verabreichte Dosis erheblich über die dosis minima hinaus gesteigert, so erhalten die Versuchssprosse genügend undissoziierte Toxinmolekel zugeführt, so daß nun auch im Stengel die charakteristischen Symptome ausgelöst werden; dementsprechend treten in Tabelle 16 auch im pH-Bereich von 6.5 bei hohen Toxingaben deutliche Stengelschädigungen auf.

Falls diese Betrachtungsweise richtig ist, dann muß der pH-gebundene Stengeleffekt noch deutlicher zutage treten, wenn wir den Tomatensprossen die Toxinlösung in einer doppelt so hohen Konzentration verabreichen; denn dann erhalten sie je ml Toxinlösung bei einem bestimmten pH doppelt so viele undissoziierte Toxinmolekel zugeführt als in Tabelle 16. Dies ist in der Versuchsreihe der Tabelle 17 geschehen, in welcher die Konzentration der verabreichten Toxinlösung auf $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar statt, wie üblich, auf $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar bemessen wurde.

Die allgemeinen Gegebenheiten, so die Verlängerung der Aufnahmezeit mit zunehmender Alkalinität der Toxinlösung und das Ansteigen der Intensität der Blattsymptome mit der Zunahme der verabreichten Toxinmenge,

gestalten sich gleich wie in Tabelle 16. Neu und entscheidend ist dagegen das frühzeitige Auftreten der Stengelsymptome im Aziditätsbereich von pH 6.5.

Hier sind schon bei einer verhältnismäßig geringen Toxingabe (75 mg je kg Lebendgewicht) etwelche Stengelsymptome zu erkennen; bei der dosis minima (150 mg je kg Lebendgewicht) betragen jedoch die Stengelsymptome schon 0.4, und bei der doppelt so hohen Toxingabe (300 mg je kg Lebendgewicht) steigen sie bis auf 1.4 an, gegen einen Durchschnitt von bloß 0.8 in Tabelle 16, wo ja dieselbe Toxinmenge beim gleichen pH in einer halb so hohen Konzentration verabreicht wurde.

Tabelle 17

Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen.
Konzentration der verabreichten Toxinlösung $5.0 \cdot 10^{-3}$ molar

Reaktion der Toxinlösung pH	Verabreichte Toxinmenge in mg je kg Frischgewicht	Durchschnittliche Schädigung der		Durchschnittl. Aufnahmezeit in Minuten
		Stengel	Blätter	
4.3	75	1.1	0.6	35
	150	2.7	2.2	90
	225	3.4	2.3	150
	300	3.5	2.7	190
6.5	75	0.2	0.8	100
	150	0.4	2.0	150
	225	0.9	3.0	180
	300	1.4	3.4	230

Diese zwei Tatsachen, daß bei pH 6.5 einerseits durch eine Steigerung der verabreichten Toxinmenge und anderseits durch eine Steigerung der Toxinkonzentration das Auftreten der Stengelsymptome begünstigt werden kann, bilden zweifelsohne eine Stütze für die Richtigkeit der Auffassung, wonach das Auftreten von Stengelsymptomen bei den Tomatensprossen (wegen der geringen Eigentranspiration der Stengelpartien) vorwiegend durch den in der Toxinlösung vorhandenen Vorrat an undissoziierten Toxinmolekeln gesteuert wird.

§ 8. Das Zusammenwirken von Lycomarasmin und Fusarinsäure

Bei manchen Infektionskrankheiten des Menschen wirkt der Mikroorganismus mit einem ganzen Besteck von verschiedenartigen Toxinen auf den Makroorganismus ein; so sind beim *Clostridium Welchii*, dem Erreger des Gasbrandes, schon drei Exotoxine näher untersucht worden. Alle drei sind Enzyme; die Lecithinase hydrolysiert das Lecithin; die Collagenase (eine Proteinase) zerstört das Muskelgerüst, und die Hyaluronidase hydrolysiert die Hyaluronsäure der Gewebeflüssigkeit. Wahrscheinlich wird die entscheidende Schädigung des Wirtes von der Lecithinase getragen, während die Bedeutung der Collagenase und der Hyaluronidase mehr darin liegt, daß sie die

Diffusion der Lecithinase erleichtern und es ihr dadurch ermöglichen, sich rascher durch die Gewebe auszubreiten und entsprechend größere Nekrosen zu erzeugen.

Da auch das *Fusarium lycopersici* zu gleicher Zeit mindestens zwei verschiedenartige Toxine, das Lycomarasmin und die Fusariumsäure, bildet, fragen wir uns, was für ein Krankheitsbild durch ihre kombinierte Wirkung entsteht.

Eine erste versuchstechnische Schwierigkeit liegt bei derartigen Untersuchungen in der Beantwortung der Frage nach dem Mengenverhältnis, in welchem die beiden Toxine gemischt werden sollen; denn sie greifen, wie schon S. 6 angedeutet wurde, den Wirt an unterschiedlicher Stelle an. Biologisch richtig wäre, sie in jenem Mengenverhältnis zu mischen, in welchem sie jeweils vom Erreger im Innern des Wirtes gebildet werden; doch läßt sich dieses Mengenverhältnis zur Zeit nicht eruieren, und in künstlichen Nährlösungen schwankt nach unseren bisherigen Erfahrungen der Gehalt an den beiden Toxinen häufig aus noch undurchsichtigen Gründen.

Wir haben uns deshalb entschlossen, den Tomatenpflanzen die beiden Toxine in derselben Gewichtsmenge zu verabreichen, nämlich zu je 150 mg je kg Lebendgewicht, also ungefähr in der dosis minima. Diese schwache Dosis wurde aus dem Grunde gewählt, weil sich in ihrem Bereich die Symptome der beiden Toxine an Tomatensprossen noch am ehesten differenzieren lassen: das Lycomarasmin wirkt dann vorwiegend auf die Spitzen und die Ränder der Fiederblättchen ein und die Fusarinsäure vorwiegend auf die Spreiten der Fiederblättchen, während bei kräftigeren Giftmengen die allgemeinen Nekrosen, die nicht mehr nach Lycomarasmin und Fusarinsäure hin differenziert werden können, überwiegen. Die Versuchsfrage lautet somit: Welches Krankheitsbild ergibt sich, wenn die beiden Toxine in geringen Mengen gleichzeitig verabreicht werden?

Wegen dieser Fixierung der zu verabreichenden Giftmenge muß die Giftkonzentration entsprechend verschoben werden. Jeder Tomatensproß soll ja in einem Zug 150 mg Lycomarasmin und 150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht aufnehmen. Das Molekulargewicht des Lycomarasmins beträgt jedoch 277, dasjenige der Fusarinsäure bloß 179. Da beim Lycomarasmin der pathogene Effekt deutlich durch die Konzentration beeinflußt wird (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950), so wurde das Lycomarasmin wie üblich in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht; jeder Kubikzentimeter Lösung enthielt somit 0.6924 mg Lycomarasmin.

Anderseits wissen wir aus Tastversuchen, daß der pathogene Effekt der Fusarinsäure auf eine Änderung der Toxinkonzentration weniger stark anspricht als das Lycomarasmin; aus diesem Grunde haben wir in dem zu verabreichenden Gemisch die Konzentration der Fusarinsäure sinngemäß variiert. Damit jeder Kubikzentimeter Lösung 0.6924 mg Fusarinsäure enthält, muß die Konzentration $3.87 \cdot 10^{-3}$ molar betragen. Die den Versuchspflanzen verabreichte Giftlösung enthielt somit das Lycomarasmin in der

Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar und die Fusarinsäure in der Konzentration von $3.87 \cdot 10^{-3}$ molar.

Im übrigen wurden die Versuche in der früher beschriebenen Weise durchgeführt. Vierblättrige Tomatensprosse wurden abgeschnitten, gewogen und in die Giftlösung gestellt, bis sie die berechnete Giftmenge aufgenommen haben. Hernach wurden sie in Leitungswasser zurückgestellt und nach 48 Stunden auf ihre Lycomarasmin- und Fusarinsäure-Symptome hin bonitiert. Temperatur 23,5 bis 24,5° C; rel. Feuchtigkeit 65 bis 75%. Beleuchtung zwei Fluoreszenzlampen.

Tabelle 18

Die kombinierte Wirkung von Lycomarasmin und Fusarinsäure auf junge Tomatensprosse

Verabreichte Toxinmenge je kg Frischgewicht	Zahl der Versuchspflanzen	Durchschnittlicher Bonitierungswert für	
		Lycomarasmin	Fusarinsäure
150 mg Lycomarasmin für sich allein in der Konzentration von $2.5 \cdot 10^{-3}$ molar ..	20	1.77	
150 mg Fusarinsäure für sich allein in der Konzentration von $3.87 \cdot 10^{-3}$ molar ..	30		0.92
je 150 mg beider Toxine gemeinsam verabreicht in der obengenannten Konzentration	20	1.69	0.91

Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengestellt und in Abb. 10 veranschaulicht. Sie zeigen, daß sich das Krankheitsbild bei beiden Toxinen nach Art und Stärke gleich bleibt, unabhängig davon, ob das betreffende Toxin für sich allein oder zusammen mit dem andern Toxin verabreicht wird. Qualität und Quantität der Symptomausprägung werden somit durch das gleichzeitig eingebrachte zweite Toxin nicht verschoben.

Abb. 10. Die kombinierte Wirkung schwacher Dosen von Lycomarasmin und Fusarinsäure auf ein Tomatenfiederblatt. Nat. Gr.

Was zunächst die Art, die Qualität der Symptome betrifft, so entspricht das Krankheitsbild des in Abb. 10 dargestellten Fiederblättchens einer reinen Summation des Lycomarasmin-Effektes der Abb. 6 und des Fusarinsäure-Effektes der Abb. 3. Die beiden Symptomkomplexe gehen deshalb selbständig und unabhängig nebeneinander her. Die orts- bzw. gewebespezifische Wirkung der beiden Toxine bleibt somit auch in ihrem Gemisch erhalten. Es ist ja

nicht anzunehmen, daß im Lycomarasmin-Fusarinsäure-Gemisch jedes der beiden Toxine getrennte Wege gehe, und daß das Lycomarasmin direkt in die Blattspitzen und Blattränder transportiert werde, während die Fusarinsäure in den Blattspreiten zurückbehalten wird. Eher ist anzunehmen, daß beide Stoffe in gleicher Weise mehr oder weniger gleichmäßig über die Blätter verteilt werden, aber aus irgendwelchen Gründen orts- oder gewebespezifisch wirken.

Was sodann die Heftigkeit der Symptomausprägung anlangt, so bleiben sich in Tabelle 18 die Lycomarasminsymptome mit einem Durchschnittswert von 1.77 in reiner Lösung und von 1.69 im Gemisch mit Fusarinsäure völlig gleich; in ähnlicher Weise beträgt bei der Fusarinsäure der durchschnittliche Bonitierungswert 0.92 für die reine Toxinlösung und 0.91 für das Fusarinsäure-Lycomarasmin-Gemisch. Der Bonitierungswert von 2.60 bei der gemeinsamen Verabreichung von Lycomarasmin und Fusarinsäure entspricht also einer bloßen Kumulation der beiden Einzelgiftwirkungen; es erfolgt somit keine gegenseitige Steigerung bzw. Abschwächung der beiden Toxine.

Die Verhältnisse scheinen somit bei den Toxinen des *Fusarium lycopersici* einfacher zu liegen als bei dem eingangs zitierten *Clostridium Welchii*. Während beim *Clostridium Welchii* zwei von den drei Toxinen vorwiegend als Wegbereiter für das dritte Toxin, das seinerseits den entscheidenden pathogenen Effekt auslöst, dienen, scheinen beim *Fusarium lycopersici* die zwei bis jetzt bekannten Toxine gleichberechtigt nebeneinander her zu gehen und in einem gewissen Ausmaß je besondere Gewebe des Wirtes zu schädigen.

Doch gilt diese Feststellung nur für das Zusammenwirken des Lycomarasmins und der Fusarinsäure; denn es besteht, wie schon früher angedeutet wurde, Anlaß zu vermuten, daß das *Fusarium lycopersici* neben diesen zwei Toxinen noch ein drittes Toxin bildet, das spezifisch auf die Leitungsbahnen des Wirtes einwirkt; falls es gelingen sollte, auch dieses dritte Toxin zu isolieren, so müßte die Frage der Synergismen zwischen den drei Toxinen erneut aufgerollt werden.

§ 9. Das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure

In dem vorliegenden Kapitel beschäftigt uns nur der Wirkungsbereich der Fusarinsäure im Bereich der Blütenpflanzen; ihren Wirkungsbereich im Bereich der Bakterien haben wir schon an Hand der Tabelle 2 betrachtet und dabei gesehen, daß die Fusarinsäure gegen Mikroorganismen sehr unspezifisch wirkt; zu demselben Ergebnis ist auch schon Yasue (1949) gelangt.

Eine ähnliche unspezifische Wirkung dürfen wir für die Fusarinsäure von vornherein auch im Bereich der Blütenpflanzen erwarten; denn sie wird von mindestens vier verschiedenen pathogenen Pilzen gebildet, die auf ganz verschiedenartigen Wirtspflanzen parasitieren, so durch das *Fusarium lyco-*

persici, das zur Hauptsache für Tomaten pathogen ist, durch das *Fusarium heterosporum*, das auf Gräsern und Äpfeln lebt, durch das *Fusarium vasinfectum*, das als Hauptwirt die Baumwollsträucher befällt, daneben aber möglicherweise auf die verschiedensten Mono- und Dikotylen übergeht, und durch die *Gibberella Fujikuroi*, die als Hauptwirte Reis, Mais und Zuckerrohr besiedelt, aber möglicherweise auch sonst noch auf zahlreichen Angio- und Gymnospermen vorkommt.

Wenn also schon die pathogenen Pilze, welche Fusarinsäure zu bilden vermögen, sehr polyphag sind, so kann nicht überraschen, das auch der Wirkungsbereich des betreffenden Toxines sehr unspezifisch ist. In Tabelle 19 sind einige Tastversuche zusammengestellt, bei welchen für sieben Objekte die dosis minima auf eine Zehnerpotenz genau bestimmt wurde. Die Prüfungen wurden mit Fusarinsäure aus Kulturen des *Fusarium lycopersici* bei pH 4.3 und mit synthetischer Fusarinsäure bei pH 6.2 durchgeführt, in den Konzentrationen von $5.0 \cdot 10^{-2}$, $5.0 \cdot 10^{-3}$ und $5.0 \cdot 10^{-4}$ molar. Eine Abhängigkeit der Toxizität vom pH der Toxinlösung, wie sie in § 5 für Tomatenpflanzen festgestellt wurde, dürfte wahrscheinlich nur bei Bohnen und Baumwolle bestehen. Doch sind wir dieser Frage im Rahmen der vorliegenden Versuche nicht weiter nachgegangen.

Tabelle 19

Das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure für einige phanerogamische Wirte

Testobjekt	dosis minima mg je kg Lebendgewicht
Roggen, *Secale cereale*	1000—2000
Mais, *Zea Mays*	1000—2000
Erbsen, *Pisum sativum*	1000—2000
Bohnen, *Phaseolus vulgaris*	100— 200
Reis, *Oryza sativa*	100— 200
Tomatensprosse, *Solanum Lycopersicum*	150
Baumwolle, *Gossypium herbaceum*	10— 20

Tabelle 19 zeigt zunächst, daß das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure von Gramineen, also von Monokotylen, bis weit in die Dikotylen hinein reicht, nämlich bis zu den Papilionaceen (Choripetalen) und den Solanaceen (Sympetalen). Bei ausgedehnteren Versuchen würde sich wahrscheinlich herausstellen, daß das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure ebenso umfassend und unspezifisch ist wie dasjenige des Patulins.

Die Sensibilität der verschiedenen Wirtsarten innerhalb dieses Spektrums ist verschieden, ohne daß sich aus dem geringen Material der Tabelle 19 eine Gesetzmäßigkeit herauslesen ließe. Roggen, Mais und merkwürdigerweise auch Erbsen sprechen auf Fusarinsäure sehr wenig an, Bohnen und Reis dagegen rund zehnmal stärker. Am empfindlichsten reagieren die Baumwollpflanzen, liegt doch bei ihnen die dosis minima rund hundertmal

niedriger als bei Roggen, Mais und Erbsenpflanzen. Doch möchten wir gleich vorwegnehmen, daß mit dieser hohen Giftigkeit der Fusarinsäure für Baumwollpflanzen das Problem der Toxigenität des *Fusarium vasinfectum* noch nicht ausgeschöpft ist; wir haben nämlich Anlaß zu vermuten, daß das *Fusarium vasinfectum* neben der Fusarinsäure noch mindestens ein weiteres Toxin bildet.

Neben diesen quantitativen Abstufungen der Toxinsensibilität bestehen bei den verschiedenen Wirtsarten auch erhebliche Unterschiede im Gewebespektrum der Fusarinsäure, also in der gewebespezifischen Sensibilität der einzelnen Wirtsarten.

Bei Roggen wurden 20 bis 25 cm hohe Pflanzen mit zwei Blättern getestet. Nach Verabreichung der dosis minima blieb der Halm turgeszent; dagegen traten am älteren Blatt parallel zu den Nerven braune, nekrotische Verfärbungen auf, die ein Austrocknen der obern Blattpartien einleiteten.

Bei Maispflanzen von 25 bis 30 cm Höhe mit zwei bis drei Blättern wurde durch die dosis minima vorwiegend das unterste Halmstück geschädigt; doch zeigten auch die beiden Blätter hellbraune Verfärbungen, wiederum streifenförmig und parallel zu den Blattnerven.

Erbsenpflanzen von 10 bis 15 cm Höhe mit drei bis vier Blättern wurden durch die dosis minima vor allem an der Stengelbasis stark geschädigt; die Stengel kollabierten bis zum Ansatz des untersten Blattes; die älteren Blätter zeigten deutliche Schädigungen am Blattgrund und längs der Nerven; sämtliche Ranken trockneten ein.

Bei Bohnenpflanzen wurde sowohl der Stiel als die Spreite der Primärblätter stark in Mitleidenschaft gezogen; der Stiel kollabierte bis zur Hälfte und das Blatt schrumpfte ein, ohne jedoch Verfärbungen zu zeigen.

Bei jungen Reispflanzen von 10 bis 15 cm Höhe mit zwei Blättern wurde der Halm durch die dosis minima nicht geschädigt; dagegen starb das ältere Blatt jeweils ab und wurde dürr.

Bei Baumwolle wurden die primären Blätter schon durch eine Giftgabe von 10 bis 20 mg je kg Frischgewicht stark geschädigt. Die empfindlichsten Gewebe liegen in der Nähe des Vegetationspunktes; der oberste Stengelteil und die Blattstiele verfärben sich

Abb. 11. Schädigungen durch Fusarinsäure bei Baumwollkeimlingen. Verabreichte Toxinmenge 20 mg je kg Frischgewicht in der Konzentration $5.0 \cdot 10^{-4}$ molar, eingestellt auf pH 4.3. Starke Stengelwirkung; starke Schädigung eines Primärblattes längs der Nerven. Nat. Gr.

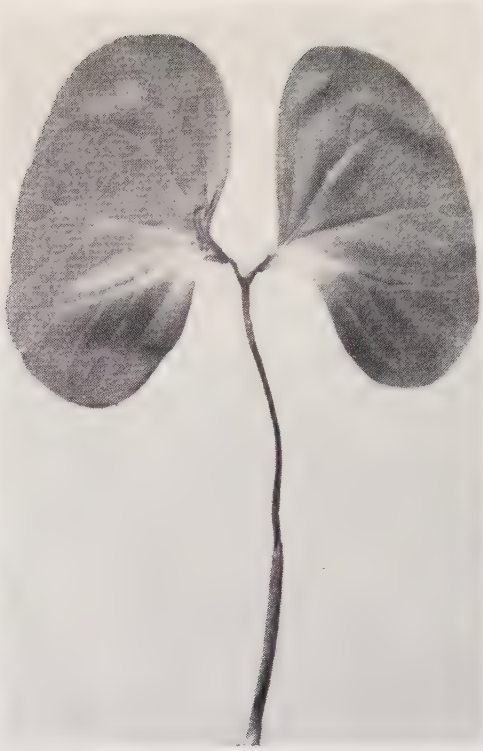


Abb. 12. Schädigungen durch Fusarinsäure bei Baumwollkeimlingen. Toxinmenge wie in Abb. 11, jedoch eingestellt auf pH 6.2. Blattstiele und ein Teil des Stengels kollabiert; nur schwache Schädigungen der Primärblätter. Nat. Gr.

dunkelbraun und kollabieren (Abb. 11 und 12). Am Grund der Primärblätter treten dunkle Nekrosen auf, die sich längs der Nerven ins Blattgewebe hinein fortsetzen (Abb. 11).

Die grobsinnlichen Symptome der Fusarinsäureschädigung gestalten sich somit bei den verschiedenen Wirtsarten sehr verschiedenartig, was vermuten läßt, daß der Angriffspunkt des Toxines bei den verschiedenen Arten an unterschiedlicher Stelle liegt (gewebespezifische funktionelle Störungen durch das Toxin). Sehr eigenartig verlaufen bei der Fusarinsäure auch die Störungen des Wasserhaushaltes des Wirtes, also der Wasseraufnahme und der Transpiration; sie gestalten sich nämlich bei ihr völlig anders als beim Lycomarasmin, das ja vom *Fusarium lycopersici* gleichzeitig und neben der Fusarinsäure gebildet wird. Hierüber werden wir demnächst in einer andern Arbeit berichten.

Zusammenfassung

1. Das *Fusarium lycopersici* bildet als Welketoxin neben dem Lycomarasmin (einem Dipeptid) zu gleicher Zeit auch noch Fusarinsäure (eine Pyridinkarbonsäure) und wahrscheinlich noch ein drittes Toxin, das spezifisch auf die Leitungsbahnen wirkt.

2. Fusarinsäure wird außer durch das *Fusarium lycopersici* auch durch das *Fusarium vasinfectum* Atk., die *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. und das *Fusarium heterosporum* Nees gebildet. Die biologische Wirksamkeit der Fusarinsäuren der drei erstgenannten Provenienzen ist identisch; sie deckt sich anderseits mit derjenigen von synthetischer Fusarinsäure.

3. Das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure ist ebenso unspezifisch wie das Wirtsspektrum der Erreger, welche Fusarinsäure bilden. Es reicht von Gramineen bis zu Papilionaceen und Solanaceen. Doch bestehen innerhalb

dieses Rahmens erhebliche quantitative und qualitative Verschiedenheiten; so ist Baumwolle für Fusarinsäure rund hundertmal sensibler als Roggen, Mais und Erbsen.

4. Fusarinsäure ist nicht das einzige Welketoxin, das vom *Fusarium vasinfectum* gebildet wird; neben ihr wird vom *Fusarium vasinfectum* noch mindestens ein weiteres, noch unbekanntes Welketoxin produziert.

5. Während das Lycomarasmin in geringen Dosen vorwiegend auf die Spitze und die Ränder der Fiederblättchen von Tomatensprossen einwirkt, schädigt die Fusarinsäure in geringen Dosen vorwiegend die Spreite der Fiederblättchen. Bei kräftigen Giftmengen entstehen allgemeine Nekrosen, die nicht mehr nach Lycomarasmin oder nach Fusarinsäure hin differenziert werden können.

6. Bei gleichzeitiger Verabreichung von Lycomarasmin und Fusarinsäure gehen die beiden Symptomkomplexe selbständig und unabhängig nebeneinander her. Die Schädigung entspricht deshalb bloß einer Kumulation der beiden Einzelgiftwirkungen, und es erfolgt keine gegenseitige Steigerung oder Abschwächung der beiden Toxine.

7. Die dosis minima, die eben ausreicht um bei Tomatensprossen Schädigungen von der Intensität 1.5 auszulösen, liegt für Fusarinsäure bei 150 mg je kg Lebendgewicht.

8. Die biologische Wirksamkeit einiger Homologa der Fusarinsäure beruht wahrscheinlich auf der 2-Stellung der Carboxylgruppe am Pyridinskelett.

9. Die Wirkungsweise der Fusarinsäure an Tomatensprossen wird durch das pH der Toxinlösung bzw. des Substrates stark modifiziert. Im sauren Bereich (z. B. pH 4.3) treten an den Tomatensprossen sowohl Stengel- als Blattschädigungen auf, bei zunehmender Alkalinität (oberhalb pH 6.2) nur noch Blattschädigungen; doch können in diesem pH-Bereich die Stengelschädigungen durch Verabreichung großer Toxinmengen erzwungen werden. Die Erklärung wird in der unterschiedlichen Dissoziierung der Fusarinsäure molekel bei verschiedenem pH gesucht.

10. Das *Fusarium lycopersici* begünstigt eine saure Reaktion des Substrates und damit eine erhöhte Wirkung der von ihm gebildeten Fusarinsäure, indem es neben Lycomarasmin und Fusarinsäure auch noch Bernsteinsäure produziert; diese besitzt keine spezifische Wirkung; ihre Bedeutung liegt ausschließlich in der Azidifizierung des Substrates; in diesem Sinne kann sie z. B. durch Apfelsäure ersetzt werden.

Literaturverzeichnis

Foster, R. E. 1946. The first symptom of Fusarium wilt: clearing of the ultimate veinlets in the leaf. Phytopath. **36**, 691—694.

Gäumann, E. 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— — 1951 a. Some problems of pathological wilting in plants. Advances in Enzymology **11**, 401—437.

— —, Naef-Roth St. et Kobel, H. 1952. Les synergismes chez les toxines de *Fusarium lycopersici* Sacc. C. r. Acad. Sc. Paris, **234**, 276—278.

— —, — —, — — 1952. L'acide fusarique, une seconde toxine de flétrissement produite par *Fusarium lycopersici* Sacc. l. c. **234**, 173—174.

— —, — — und Miescher, G. 1950. Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Ztschr. **16**, 257—288.

— —, — —, Reusser, P. und Ammann, A. 1952. Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. l. c. **19**, 160—220.

Kern, H. 1952. Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. l. c. **19**, 351—382.

Kobel, Fr. 1951. Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. l. c. **18**, 157—195.

Linder, A. 1945. Statistische Methoden für Naturwissenschafter. Birkhäuser, Basel, 150 S.

Small, J. 1929. Hydrogen-ion concentration in plant cells and tissues. Protoplasma-Monographien **2**, Berlin.

Thatcher, F. S. 1942. Further studies of osmotic and permeability relations in parasitism. Canadian Journ. Res. **20 C**, 283—311.

Yabuta T., Kambe K. and Hayashi, T. 1934. Biochemistry of the Bakanae-fungus. I. Fusarinic acid, a new product of the Bakanae-fungus. Journ. Agr. Chem. Soc. Japan **10**, 1059—1068, zit. nach Chemical Abstracts **29**, 1937, S. 1132.

Yasue, Y. 1949. Studies on the antibacterial action of fusaric acid, a metabolic product of the causative mould of the „Bakanae" disease of rice plants. Journ. Antibiotics **2**, 262—264.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Untersuchungen über den Einfluß des Kupfers auf die pflanzliche Transpiration

Von
H. Kobel

Mit 18 Tabellen und 10 Abbildungen im Text

Inhalt: I. Einleitung und Problemstellung. — II. Experimenteller Teil. 1. Kapitel: Methodische Grundlagen. A. Versuchspflanzen; B. Methodik der Transpirationsbestimmung; C. Versuchsanordnung und äußere Versuchsbedingungen; D. Verwendete Kupfermittel und Art ihrer Applizierung; E. Auswertung der Resultate. 2. Kapitel: Ergebnisse. A. Versuche mit Kupfersulfat; B. Versuche mit schwerlöslichen, reinen Kupferverbindungen; C. Versuche mit im Handel erhältlichen fungiziden Kupferpräparaten; D. Potetometerversuche zur Abklärung der Wirkung genau dosierter, durch den Stengel aufgenommener Mengen von Kupfersulfat; E. Versuche mit Kobaltchlorürpapier; F. Untersuchungen über den Öffnungszustand der Stomata; G. Durch Kupfermittel an den Pflanzen verursachte Schädigungen. — III. Diskussion. — IV. Zusammenfassung. — V. Literaturverzeichnis.

I. Einleitung und Problemstellung

Da Kupferverbindungen auf Mikroorganismen eindeutig toxisch wirken, erhebt sich die Frage, ob sie auch die Lebensfunktionen der höheren Pflanzen zu beeinflussen vermögen. Obwohl diesem Problem von physiologischer und pflanzenpathologischer Seite her schon beträchtliche Beachtung geschenkt wurde, ist doch der ganze Fragenkreis noch nicht befriedigend gelöst.

Um die letzte Jahrhundertwende, als die Bordeauxbrühe im Obst- und Weinbau eine allgemeine Verbreitung gefunden hatte, drehte sich die Diskussion hauptsächlich um die Frage, ob das Kupfer die pflanzliche Lebenstätigkeit fördere oder hemme. Es fehlte nicht an Autoren, die dem Kupfer die Fähigkeit zusprachen, das allgemeine pflanzliche „Wohlbefinden" zu erhöhen (Rumm, 1893; Aderhold, 1903; Wortmann, 1919; Killing, 1919). In neuerer Zeit begegnet man jedoch ausschließlich der Auffassung, daß von einer solchen Wirkung nicht die Rede sein könne. Nur in jenen Fällen gedeihen gespritzte Pflanzen besser als die Kontrollen, wo das als Spurenelement notwendige Kupfer im Boden fehlt, oder wo die Kontrollen, weil sie unbehandelt geblieben sind, erkranken.

Als Kriterien für die Beurteilung der pflanzlichen Reaktion auf Kupfermittel wurden herangezogen:

Die äußerlich gut erkennbaren, als Verbrennungen bezeichneten Nekrosen an Blättern und Stengeln (DAXER, 1939);
Der Ernteertrag (EWERT, 1905);
Stärkegehalt in Kartoffelknollen (GASSNER und GRIMM, 1952);
Wirkung auf Enzyme (EWERT, 1905);
Wachstum, Deformationen von Blättern und Früchten (zit. in HORSFALL, 1945);
Photosynthese (GASSNER und GOEZE, 1932)
und Transpiration.

Was die Beeinflussung der Transpiration anbetrifft, sind in der Literatur alle denkbaren Möglichkeiten zu finden.

DUGGAR und COOLY, 1914 fanden, daß durch Bordeauxbrühe die Transpiration erhöht werde. Nach MILLER, 1938 bleibt die Transpiration unbeeinflußt durch Bordeauxbrühe, während EWERT, 1905, sowie SOUTHWICK und CHILDERS, 1941 eine Verminderung der Transpiration nach Bordeauxbehandlung fanden. Diese Beispiele ließen sich mühelos vermehren.

Es ist das Verdienst von HORSFALL und HARRISON, 1939, in diesem Wirrwarr einige Klarheit geschaffen zu haben, indem sie durch ihre Versuche zeigten, daß durch Bordeauxbrühe die kutikulare Transpiration erhöht, die stomatäre dagegen erniedrigt wird. Die Gesamttranspiration muß demnach als aus zwei Komponenten zusammengesetzt betrachtet werden, von denen jede durch Bordeauxbrühe in einem andern Sinne beeinflußt wird. Je nach dem Verhältnis der einen Komponente zur andern ergibt sich entweder nach Behandlung mit Bordeauxbrühe eine Erhöhung oder eine Erniedrigung der Gesamttranspiration. In dem Fall, da sich beide Effekte die Waage halten, ist scheinbar keine Beeinflussung vorhanden.

HORSFALL und HARRISON stellten die Theorie auf, daß die Erniedrigung der stomatären Transpiration ganz einfach durch eine Verstopfung der Stomata durch den Spritzbelag zu erklären sei. Die Erhöhung der kutikularen Transpiration wird dadurch erklärt, daß durch die überschüssige Lauge in der Bordeauxbrühe die Wachse und Fette, welche schichtweise in der Kutikula eingelagert sind, verseift werden, wodurch diese permeabler wird. Eine Hydrierung durch saure Lösungen soll nach Angabe der Autoren denselben Effekt haben.

Während bis anhin in den weitaus meisten Fällen das Kupfer nur in Form der chemisch sehr komplizierten Bordeauxbrühe appliziert wurde, ist in der vorliegenden Arbeit versucht worden, den Einfluß des Kupferions auf die kutikulare und auf die stomatäre Transpiration abzuklären. Zu diesem Zwecke mußten möglichst reine, chemisch genau definierte Kupferverbindungen zur Anwendung gelangen. Später wurde dann allerdings die Bordeauxbrühe sowie einige andere Handelspräparate ebenfalls noch herangezogen. Dies schon deshalb, um die Ergebnisse mit denen anderer Autoren vergleichen zu können.

II. Experimenteller Teil

1. Kapitel

Methodische Grundlagen

A. Versuchspflanzen

Die Versuche wurden mit Bohnen der Sorte Genfer Markt durchgeführt. Bohnen bieten den Vorteil der leichten Kultivierbarkeit während des ganzen Jahres, des schnellen Wachstums und der hohen Wasserabgabe. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus in 7-cm-Töpfen in Komposterde aufgezogen. Für jeden Versuch wurden jeweils von 40 Pflanzen die 10 bis 15 schönsten und gleichmäßigsten ausgelesen. Es hat sich gezeigt, daß die Abweichungen der einzelnen Transpirationswerte vom Mittelwert mit dem Alter der Pflanzen und der Anzahl der Blätter zunehmen. Die kleinste Streuung wurde erhalten, wenn die Pflanzen 14 Tage alt waren. Die Primärblätter sind dann voll entwickelt und ausgewachsen. Die jungen sekundären Blätter wurden weggeschnitten und die Wunden mit Vaseline bestrichen. Die mittlere Streuung bei Messungen an solchen Pflanzen übersteigt bei Belichtung im allgemeinen 30 % nicht. Häufig ist sie kleiner als 10 %. Die Werte der kutikularen Transpiration sind größenordnungsmäßig um eine halbe bis eine ganze Zehnerpotenz kleiner. Naturgemäß wird dann die in Prozenten ausgedrückte Streuung größer.

Zwei Tage vor Versuchsbeginn wurden die Bohnen zur Akklimatisierung aus dem Gewächshaus in den Transpirationsraum gebracht, und während täglich 12 Stunden mit Fluoreszenzröhren belichtet. Durch eine automatische Schaltuhr wurde das Licht vier Stunden vor Beginn der Wägung eingeschaltet, so daß bei Versuchsbeginn die Spaltöffnungen schon offen standen. Sollte die kutikulare Transpiration gemessen werden, wurde das Licht vier Stunden vor Versuchsbeginn ausgelöscht.

B. Methodik der Transpirationsbestimmung

Die Bestimmung des Wasserverlustes wurde in allen Versuchen durch Wägung vorgenommen. Es stand die von Gäumann und Jaag, 1936 beschriebene Transpirationswaage zur Verfügung. Sie trägt an einem verlängerten Waagebalken ein Glühlämpchen. Das Licht wird durch eine Linse auf eine mit Photopapier überzogene rotierende Trommel geworfen. Diese Waage bietet den Vorteil, daß der exakte zeitliche Ablauf der Wasserabgabe in einer Kurve direkt festgehalten wird. Ein Nachteil ist es, daß pro Versuchsdauer nur der Transpirationswert einer einzigen Pflanze ermittelt werden kann. Viele Vorversuche zeigten, daß die Transpirationskurven sowohl der kutikularen, als auch der Gesamttranspiration von behandelten wie von unbehandelten Pflanzen über mehrere Stunden linear verliefen, wenn die äußeren Bedingungen im Raum konstant blieben. Es genügte somit für unsere Zwecke, das Gewicht am Anfang und am Ende der Versuchsperiode festzustellen. Auf diese Weise konnten statt einer Pflanze deren 10

bis 15 in einen Versuch aufgenommen werden. Für diese Wägungen eignete sich eine halbautomatische, magnetisch gedämpfte Schnellwaage der Firma Keller, Zürich, vorzüglich. Sie besitzt bei einer Belastung von 500 g eine Ablesegenauigkeit von ± 5 mg. Es zeigte sich, daß während einer Versuchsdauer von fünf Stunden die Wasserabgabe so groß ist, daß der Wägefehler vernachlässigt werden kann.

Um die Wasserabgabe der Erde im Topf auszuschalten, wurde dieser in eine Blechdose gestellt und der Deckel derselben mit Isolierband und Vaseline luftdicht geschlossen. Die Pflanze ragte durch einen Schlitz im Deckel ins Freie. Auch dieser Schlitz wurde sorgfältig verstrichen. Kontrollversuche zeigten, daß der Gewichtsverlust von Dose und Topf in 48 Stunden nicht größer war als 10 mg, so daß die während des Versuches gemessene Wasserabgabe wirklich nur auf die Transpiration der oberirdischen Pflanzenteile zurückzuführen ist. Am Ende der fünfstündigen Versuchsperiode wurde der Deckel gehoben, so daß frische Luft auch zu den Wurzeln wieder Zutritt hatte, und die Pflanze am nächsten Tag wieder verwendet werden konnte. Das wegtranspirierte Wasser wurde alle zwei Tage ersetzt, indem Leitungswasser in den Topf pipettiert wurde, bis das ursprüngliche Gewicht wieder erreicht worden war.

C. Versuchsanordnung und äußere Versuchsbedingungen

Zur Belichtung dienten neun in einer Ebene senkrecht nebeneinander aufmontierte kalte Tageslicht-Fluoreszenzröhren. Die Pflanzen standen auf einem Gestell in zwei Reihen vor diesen Lampen. Die untere Reihe war 20 cm, die obere 65 cm vom Boden entfernt. Der Abstand der Pflanzen von den Röhren betrug 25 cm.

Die Raumtemperatur wurde mit mehreren kleinen, durch einen Thermostaten gesteuerten elektrischen Heizspiralen auf ± 0,2 ° C konstant gehalten. Es war nicht möglich, eine Temperaturschichtung in vertikaler Richtung zu vermeiden, da durch Betätigung von Ventilatoren ein Luftstrom entstanden wäre, der erfahrungsgemäß die Transpiration beeinflußt hätte (GÄUMANN und JAAG, 1939). Auf der Höhe der unteren Pflanzenreihe betrug die Temperatur 26,4 ± 0,2 ° C, auf jener der oberen 27,0 ± 0,2 ° C. Da diese Temperaturdifferenz stets dieselbe blieb, und da während der ganzen Versuchsdauer jede Pflanze immer am gleichen Platz stand, sind alle erhaltenen Werte doch gut untereinander vergleichbar. Dies um so mehr, als der Vergleich nicht auf den absoluten Werten basiert, sondern auf relativen, wie es im Abschnitt E beschrieben wird.

Die relative Luftfeuchtigkeit betrug 65 ± 2 %. Diese Feuchtigkeit stellte sich automatisch ein, wenn der poröse Betonboden des Transpirationsraumes mit Wasser besprengt wurde. Wichtig war, daß die Temperatur konstant blieb, und daß der Boden immer naß war. Die Schwankungen waren auf diese Weise gering. Die Messung erfolgte mit einem Assmannschen Aspirationspsychrometer, in einer Höhe von 85 cm über dem Boden.

Die Wägungen wurden an sechs aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Jede Woche wurde eine Serie von 10 bis 15 Pflanzen in den Versuch

aufgenommen. Davon wurde ein Teil als Kontrolle ausgeschieden, während der andere mit dem jeweils dafür vorgesehenen Kupfermittel behandelt wurde.

Am Ende der sechs Versuchstage waren die Kontrollen jeweils noch vollkommen gesund und kräftig, und unterschieden sich von gleichaltrigen Pflanzen im Gewächshaus nicht. Die behandelten Pflanzen zeigten je nach Art und Konzentration des Mittels Schädigungen in allen Abstufungen. Über diese Schädigungen soll weiter hinten noch berichtet werden.

D. Verwendete Kupfermittel und Art ihrer Applizierung

Zuerst wurden vier einfache, chemisch reinste Substanzen geprüft, nämlich Lösungen von $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ in verschiedenen Konzentrationen, und Aufschwemmungen von Kupferoxydul, Cuprioxyd und Kupferkarbonat.

Daneben gelangten drei der gebräuchlichsten Handelspräparate zur Anwendung, nämlich Kukaka (Kupfer-Casein-Kalkbrühe), Virikupfer (ein Kupferoxychloridpräparat) und Cupromaag (ein kupferkarbonathaltiges Mittel). Alle drei sind Fabrikate der Firma Dr. R. Maag, Dielsdorf.

Lösungs- bzw. Aufschwemmungsmittel war stets doppelt destilliertes Wasser. Das zur Verfügung stehende destillierte Wasser enthält, da es in einer kupfernen Wanne aufbewahrt wird, stets Spuren von Kupfer. Es wurde daher aus Glasgefäßen nochmals destilliert.

In den ersten Versuchen wurde die Brühe mit einem Handzerstäuber auf die Blätter gespritzt, und zwar erfolgte die Zerstäubung so lange, bis die Brühe von den Blättern abtropfte. In allen Versuchen wurden die Blätter stets beidseitig behandelt. Bei den aus den reinen Cu-Verbindungen hergestellten Brühen erwies es sich als notwendig, ein Netzmittel zuzusetzen. Ohne dieses war die Verteilung des Belages ungenügend. Als Netzmittel wurde der von der Firma Maag unter dem Namen Triton-x-100 gelieferte Polyäthylenglycol-monoisooctyl-phenyl-äther verwendet, und zwar stets in einer Konzentration von 0,25 %.

Es hat sich jedoch dann gezeigt, daß das Netzmittel nicht ohne Einfluß auf die Transpiration ist. Ein weiterer Nachteil besteht darin, daß die Benetzungsdauer weder genau gemessen, noch gut reguliert werden kann. Die Benetzungsdauer übt jedoch, wie Daxer, 1939 für Kupfersulfat gezeigt hat, einen ähnlich hohen Einfluß auf die Schädigungen an Blättern aus, wie die Konzentration der Lösung. Ferner wird während des Eintrocknens, zumindest im Falle von Kupfersulfat, die Konzentration des löslichen Anteiles an Cu ständig verändert. Mit der Konzentrationsänderung verschiebt sich auch das pH der $CuSO_4$-Lösung. Aus diesen Gründen wurde dazu übergegangen, das Kupfer in der Weise einwirken zu lassen, daß die Blätter während einer bestimmten Zeitdauer direkt in die Spritzbrühe tauchten. Am Ende der Eintauchzeit wurden die Blätter sorgfältig abgespritzt und in destilliertem Wasser geschwenkt, so daß möglichst kein Rückstand auf ihnen haften blieb. Die Kontrollpflanzen tauchten während gleich langer Zeit in

Tabelle 1

Transpirationswerte eines sechs Tage dauernden Versuches, ausgedrückt in mg und %

Pfl. Nr.	Tag	Transp. in 5h mg	Transp. in % des 1. Tages	Pfl. Nr.	Tag	Transp. in 5h mg	Transp. in % des 1. Tages
1	1	2060	100	6	1	1520	100
	2	2540	123		2	1770	116
	3	1790	87		3	1980	130
	4	2030	98,5		4	1980	130
	5	2090	101,5		5	1940	127,5
	6	1860	90		6	1760	116
2	1	1660	100	7	1	2520	100
	2	1780	107		2	3030	120
	3	1970	118,5		3	2920	116
	4	1910	115		4	2820	112
	5	1780	107		5	3130	124
	6	1560	94		6	3180	126
3	1	1600	100	8	1	1700	100
	2	1840	115		2	1850	109
	3	1250	78		3	1410	83
	4	1910	119		4	1600	94
	5	2000	125		5	1560	92
	6	2340	146		6	1740	102
4	1	2080	100	9	1	1380	100
	2	2350	113		2	1710	124
	3	1630	78,5		3	1520	110
	4	1940	93		4	1930	140
	5	1900	91		5	1820	132
	6	2220	106,5		6	1960	142
5	1	2440	100	10	1	1740	100
	2	2760	113		2	1880	108
	3	1980	81		3	1420	81,5
	4	2620	107		4	1530	88
	5	2460	101		5	1560	89,5
	6	2580	105,5		6	1740	100

Tabelle 2

Durchschnittliche Transpiration, ausgedrückt in % des ersten Tages

Behandlung	Pfl. Nr.	1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandl.	4. Tag	5. Tag	6. Tag
Kontrolle H_2O	2	100	107	118,5	115	107	94
	6	100	116	130	130	127,5	116
	7	100	120	116	112	124	126
	9	100	124	110	140	132	142
	S	400	467	474,5	497	490,5	478
	$\bar{x}$	**100**	**116,8**	**118,6**	**124,3**	**122,6**	**119,5**
			±6,8	**±8,6**	**±12,9**	**±11,1**	**±20,1**
$\bar{x}$ Milligramm/5h		1770					
$CuSO_4 . 5H_2O$ 0,12% + Netzmittel	1	100	123	87	98,5	101,5	90
	3	100	115	78	119	125	146
	4	100	113	78,5	93	91	106,5
	5	100	113	81	107	101	105,5
	8	100	109	83	94	92	102
	10	100	108	81,5	88	89,5	100
	S	600	681	489	599,5	600	650
	$\bar{x}$	**100**	**113,5**	**81,5**	**99,9**	**100**	**108,3**
			±7,0	**±5,6**	**±10,4**	**±13,3**	**±19,5**
$\bar{x}$ Milligramm/5h		1935					

destilliertem Wasser. Bei allen Behandlungen war die Temperatur der Brühe, und im Falle der Kontrollen jene des Wassers, dieselbe wie die des Raumes. Zwei Stunden später, wenn die Blätter wieder vollständig trocken waren, wurde gewogen.

E. Auswertung der Resultate

Trotz weitgehender äußerer Einheitlichkeit und gleichartiger Behandlung aller Pflanzen, zeigten sich in der Transpirationstätigkeit von Individuum zu Individuum so große Unterschiede, daß eine Gegenüberstellung der absoluten Zahlen kein übersichtliches Bild ergäbe. Da alle Pflanzen eine annähernd gleich große Blattoberfläche aufwiesen, würde auch nichts erreicht, wenn man die Wasserabgabe pro Flächeneinheit angeben würde. Es erschien daher zweckmäßig, mit Prozenten zu rechnen, und jene Anzahl mg, die eine Pflanze während der fünf Stunden am ersten Versuchstag transpirierte, als 100 % zu setzen. Hernach wurde aus jeder Serie gleichartig behandelter Pflanzen für jeden Tag der Mittelwert und die Streuung berechnet. Um besser deutlich machen zu können, wie die erhaltenen Ergebnisse ausgewertet worden sind, sei als Beispiel ein beliebig aus dem Protokollheft herausgegriffener Versuch hier wiedergegeben (Tab. 1 und 2).

Versuch 25. 28. November bis 3. Dezember.

Zehn Bohnen, Genfer Markt, 14 Tage alt, je zwei Blätter. Transpiration gemessen während täglich fünf Stunden (10^h bis 15^h) bei Belichtung
Am dritten Tag (30. November), zwei Stunden vor Beginn der Wägung, bespritzt mit $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,12%ig + Netzmittel: Nr. 1, 3, 4, 5, 8, 10.
Kontrollen mit Aqua bidest: Nr. 2, 6, 7, 9

Die Berechnung der Streuung erfolgte nach der Formel

$$s^2 = \frac{1}{N-1}\left(\sum_{i=1}^{N} x_i^2 - \bar{x} \sum_{i=1}^{N} x_i \right). \quad \text{(LINDER, 1945)}$$

Zur besseren Veranschaulichung sind die Ergebnisse in Abb. 1 graphisch aufgetragen.

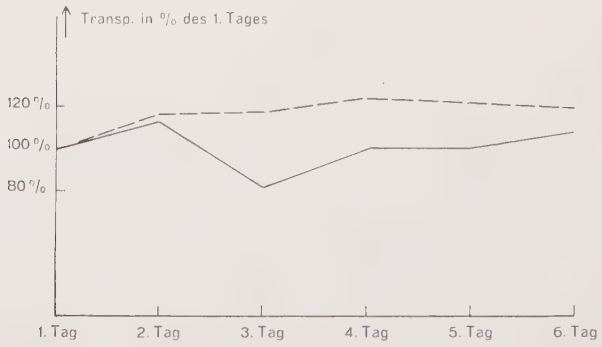


Abb. 1. Verlauf der Transpiration behandelter und unbehandelter Pflanzen im Licht. Ordinate: Gesamttranspiration in % des ersten Tages. Abszisse: Tage.
———— = Durchschnitt aus sechs Pflanzen, die am dritten Tag mit $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,12-prozentig) + Netzmittel bespritzt wurden.
– – – – = Kontrolle. Durchschnitt aus vier Pflanzen, die am dritten Tag mit destilliertem Wasser bespritzt wurden

Es stellt sich nun noch die Aufgabe, abzuklären, ob die Differenz zwischen behandelten Pflanzen und Kontrollpflanzen gesichert sei oder nicht. Zu diesem Zweck wird die t-Verteilung nach folgender Formel berechnet (LINDER, 1945):

$$s_d^2 = \frac{1}{N_1 + N_2 - 2}\left[\sum_{i=1}^{N_1} (x_i' - \bar{x}')^2 + \sum_{i=1}^{N_2} (x_i'' - \bar{x}'')^2 \right];$$

$$t = \frac{\bar{x}' - \bar{x}''}{s_d} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}.$$

N_1 = Anzahl Werte der ersten Reihe $\bar{x}'$ = Mittelwert der ersten Reihe
N_2 = Anzahl Werte der zweiten Reihe $\bar{x}''$ = Mittelwert der zweiten Reihe.

Im obigen Beispiel ersieht man ohne weitere Berechnung, daß die Differenz der beiden Reihen am zweiten Tag rein zufällig und ohne Bedeutung ist. Für den dritten Tag errechnet sich das t zu 8,378. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Unterschied als gesichert betrachtet, wenn das t einem P von 0,01 entsprach, oder größer war. Bei n = 8 Freiheitsgraden entspricht einem P von 0,01 ein t von 3,355 (LINDER, 1945). Somit ist mit einem t von 8,378 der Unterschied sehr gut gesichert. Am vierten Tag berechnet sich das t zu 3,319. Die Differenz wird als nicht mehr gesichert betrachtet. Für den fünften und sechsten Tag sieht man wieder ohne weitere Berechnung, daß kein gesicherter Unterschied besteht.

Tabelle 3

Gesamttranspiration aus Spritzversuchen mit Kupfersulfat + Netzmittel
Behandlung am dritten Tage, zwei Stunden vor Versuchsbeginn

Versuch Nr.	Konz. der Lösung $CuSO_4.5H_2O$	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
23	Kontrolle 0,03%	4 6	2110 2260	100 100	114,5±24,8 106,8± 7,7	107,3±37,7 100,1± 6,0	108,1±36,7 89,9±28,6	109,1±39,3 111,7±13,3	
					−7,7	−7,2	−18,2	+2,6	
28	Kontrolle 0,06%	4 6	1740 1800	100 100	123,8± 6,4 124,8±11,4	131,4± 6,8 102,5± 7,8	109,4± 2,6 96,2± 7,1	103,5± 5,0 95,1± 8,6	106,3±11,1 102,7±12,5
					+1,0	**− 28,9**	− 13,2	−8,4	−3,6
27	Kontrolle 0,09%	4 6	2260 2080	100 100	112,4± 6,2 112,7± 7,8	119,2± 5,0 89,2± 6,8	103,5± 4,6 95,3± 8,4	112,4± 7,4 103,6±10,7	110,1±11,9 103,3±14,6
					+0,3	**−30,0**	−8,2	−8,8	−6,8
25	Kontrolle 0,12%	4 6	1770 1935	100 100	116,8± 6,8 113,5± 7,0	118,6± 8,6 81,5± 5,6	124,3±12,9 99,9±10,4	122,6±11,1 100,0±13,3	119,5±20,1 108,3±19,5
					−3,3	**−37,1**	−24,4	−22,6	−11,2
26	Kontrolle 0,24%	4 6	1605 1757	100 100	117,5±15,7 107,3± 7,8	119,6±17,5 80,7± 7,9	121,8±15,2 95,3± 8,0	121,4±16,8 108,3±10,2	123,9±15,6 112,4±18,3
					−10,2	**38,9**	**−26,5**	−13,1	−11,5

Aus Gründen der Platzersparnis und der klareren Übersicht wird in dieser Arbeit darauf verzichtet, die absoluten Zahlen in mg anzugeben, sondern die Transpirationswerte sind stets in Prozenten ausgedrückt. Um jedoch einen Anhaltspunkt über die Größenordnung der abgegebenen Wassermenge zu vermitteln, wird, wie im obigen Beispiel, bei jedem Versuch jeweils der Durchschnittswert jeder Serie am ersten Tag in mg angegeben.

Nur dort, wo es sich darum handelte, die stomatäre Transpiration zu berechnen, also die Gesamttranspiration (bei Belichtung) und die kutikulare Transpiration (im Dunkeln) miteinander zu vergleichen, fand sich kein anderer Weg, als auf die absoluten Zahlen zu greifen.

2. Kapitel

Ergebnisse

A. Versuche mit Kupfersulfat

Applizierung des Kupfers durch Spritzen mit Netzmittelzusatz

Gesamttranspiration. In dieser Reihe wurden fünf Versuche mit steigenden Konzentrationen von Kupfersulfat durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Im vorhergehenden Abschnitt ist am Beispiel des Versuches Nr. 25 ausführlich erläutert worden, wie die Durchschnittswerte ermittelt wurden. Für jeden Versuch sind in der dritten Horizontalreihe die Differenzen zwischen Kontrollen und behandelten Pflanzen aufgetragen. Die fettgedruckten Zahlen bedeuten, daß die betreffende Differenz statistisch gesichert ist. Dasselbe gilt für alle nachfolgenden Tabellen dieser Art.

Schlußfolgerung: Die Gesamttranspiration wird durch Bespritzung der Blätter mit Lösungen von Kupfersulfat + Netzmittel vorübergehend erniedrigt. Zwei Tage nach der Bespritzung ist zwischen Kontrollen und behandelten Pflanzen kein gesicherter Unterschied mehr vorhanden. Durch eine Spritzbrühe, die 0,03 % $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ (entsprechend $1{,}2 \cdot 10^{-3}$ Mol/L) enthält, wird die Transpiration nicht beeinflußt. Von 0,06 % (= $2{,}4 \cdot 10^{-3}$ Mol/L) an ist der Unterschied gesichert.

Dunkel-Transpiration. Die in Tab. 4 zusammengestellten Ergebnisse wurden aus Versuchen erhalten, die in gleicher Weise wie die vorhergehenden durchgeführt worden waren, mit dem Unterschied, daß die Messung des Gewichtsverlustes während einer fünfstündigen Dunkelperiode erfolgte.

Schlußfolgerung: Durch Kupfersulfatlösungen der Konzentration 0,06 g/100 cc (= $2{,}4 \cdot 10^{-3}$ Mol/L) und mehr wird die Dunkel-Transpiration vorübergehend erheblich gesteigert. Bei einer 0,03%igen Lösung ist eine Erhöhung angedeutet, aber in diesem Falle nicht gesichert. Der

Effekt ist unmittelbar nach der Behandlung am ausgeprägtesten und nimmt an den nachfolgenden Tagen ständig ab.

Einfluß des Netzmittels auf die Transpiration

In den vorstehend beschriebenen Versuchen war es notwendig, der Spritzbrühe ein Netzmittel zuzusetzen. Es mußte daher abgeklärt werden, in welcher Weise die Transpiration beeinflußt wird, wenn man das Netzmittel allein, in der gleichen Konzentration wie vorher mit Cu-Sulfat zusammen, anwendet. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 5 zusammengestellt.

Schlußfolgerung: Das hier verwendete Netzmittel vermag die Transpiration im Dunkeln vorübergehend sehr wesentlich zu erhöhen.

Die Gesamttranspiration wird nicht beeinflußt. Es läßt sich allerdings am Tage der Behandlung eine leichte Steigerung feststellen, die wohl auf eine Vermehrung der Dunkel-Transpiration zurückzuführen ist. Da die Transpiration im Lichte sehr viel größer ist als diejenige im Dunkeln, vermag auch eine Vervielfachung der letzten um das 2- bis $2^1/_2$fache die Gesamttranspiration nicht sehr wesentlich zu erhöhen (vgl. auch Tab. 6 unten).

Tabelle 4 Transpiration im Dunkeln. Werte aus Spritzversuchen mit Kupfersulfat + Netzmittel

Versuch Nr.	Konz. der Lösung $CuSO_4 . 5H_2O$	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$. mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
30	Kontrolle	3	263	100	117,3 ± 6,8	98,0 ± 12,1	103,7 ± 15,1	98,0 ± 22,2	104,3 ± 17,5
	0,03%	3	367	100	97,0 ± 5,2	184,3 ± 58,5	141,0 ± 33,8	111,0 ± 16,1	93,5 ± 11,6
					−20,3	+86,3	+37,3	+13,0	−10,8
29	Kontrolle	4	282	100	91,8 ± 12,9	82,9 ± 6,1	76,9 ± 6,4	96,1 ± 18,9	96,8 ± 13,5
	0,06%	4	295	100	93,0 ± 25,4	259,8 ± 69,2	192,3 ± 31,8	164,9 ± 54,4	144,5 ± 36,5
					+1,2	**+176,9**	**+115,4**	+68,8	+47,7
	0,12%	4	302	100	94,9 ± 13,6	282,5 ± 63,3	218,8 ± 39,6	214,0 ± 35,6	184,0 ± 42,8
					+3,1	**+199,6**	**+141,9**	**+117,9**	+87,2
30	Kontrolle	3	263	100	117,3 ± 6,8	98,0 ± 12,1	103,7 ± 15,1	98,0 ± 22,2	104,3 ± 17,5
	0,24%	3	263	100	118,7 ± 1,7	256,3 ± 28,9	226,3 ± 77,6	183,0 ± 38,7	151,7 ± 25,8
					+1.4	**+158,3**	**+122,6**	**+85,0**	+47.4

Vergleich der einzelnen Transpirationsarten behandelter und unbehandelter Pflanzen

Die stomatäre Transpiration ergibt sich als Differenz zwischen der bei Belichtung gemessenen gesamten und der bei Dunkelheit festgestellten kutikularen Wasserabgabe.

Wie weiter unten (S. 71) dargetan wird, ist der Ausdruck kutikulare Transpiration für die Transpiration im Dunkeln bei behandelten Pflanzen nicht richtig, weil durch die Behandlung mit Kupfersulfat die Stomata auch im Dunkeln geöffnet sind. Der Ausdruck muß demnach für den Fall behandelter Pflanzen abgeändert werden. Wir haben die Bezeichnung Dunkel-Transpiration gewählt. Wie groß die reine kutikulare Transpiration behandelter Pflanzen ist, kann nicht ausgesagt werden. Daher ist es auch nicht möglich, die stomatäre Wasserabgabe zu berechnen. Sie wird hier einfach durch den Ausdruck Differenz zwischen Gesamt- und Dunkel-Transpiration ersetzt.

Die in Tab. 6 aufgeführten Daten geben den Wasserverlust in mg an. Sie sollen lediglich einen Eindruck über die Größenordnung vermitteln. Genaue Werte sind darum nicht zu erwarten, weil die Gesamttranspiration

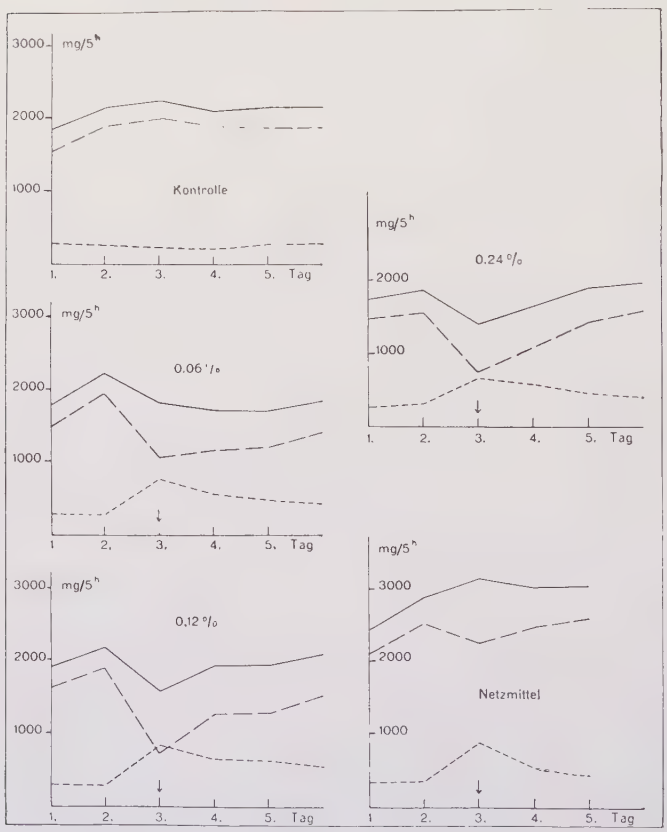


Abb. 2. Vergleich der einzelnen Transpirationsarten bei verschiedener Behandlung, zusammengestellt aus Spritzversuchen.
Ordinaten: Wasserverlust am betreffenden Tage während 5 Stunden in mg. (Vgl. Tab. 6)
Abszissen: Tage.
——— = Gesamttranspiration
- - - - - = Dunkel-Transpiration (= kutikulare Transp. bei unbehandelten Pflanzen)
— — — = Differenz zwischen Gesamt- und Dunkel-Transpiration (= stomatäre Transp. bei unbehand. Pflanzen)
Pfeil: Tag der Behandlung
Werte %: Konzentration der Kupfersulfatlösung. (Netzmittel überall, mit Ausnahme der Kontrolle: 0,25 %)
Weitere Erklärungen im Text

und die Dunkel-Transpiration in verschiedenen Versuchsserien, also mit verschiedenen Pflanzen und zu verschiedener Zeit, gemessen worden sind. Um beide Transpirationsarten an ein und demselben Individuum zu bestimmen, wäre es notwendig gewesen, dieses während täglich zweimal fünf Stunden, einmal im Licht und einmal im Dunkeln, unter luftdichtem Abschluß des Wurzelwerkes zu belassen. Im Interesse einer schonenden Behandlung der Versuchspflanzen mußte darauf verzichtet werden.

Zur besseren Veranschaulichung sind die in Tab. 6 zusammengestellten Werte in Abb. 2 graphisch aufgetragen.

Die Abbildung zeigt deutlich, daß die Gesamt-Transpiration unmittelbar nach der Kupfersulfatbehandlung stark zurückgeht, während die Kurve der Dunkel-Transpiration umgekehrt verläuft. Gegen das Ende der Versuchszeit streben die Kurven wieder ihrem normalen Verlauf zu.

Man sieht auch, daß der Verlauf der Kutikulartranspirationskurven zur Hauptsache dem Netzmittel zuzuschreiben ist, während die Transpiration bei Belichtung durch dieses nur unerheblich beeinflußt wird.

Applizierung des Kupfers durch Eintauchen der Blätter in die Lösung.

Aus den im Abschnitt D dargelegten Gründen und in der dort beschriebenen Weise wurde eine Versuchsreihe durchgeführt, bei der das Spritzen ersetzt wurde durch Eintauchen der Blätter in die Kupfersulfatlösung.

Tabelle 5 Dunkel- und Gesamt-Transpiration. Werte aus Spritzversuchen mit Netzmittel allein (Netzmittel: Triton X—100, Firma Dr. R. Maag, Dielsdorf. Konz. 0,25 %)

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	x, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
33	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	2336	100	116,4±10,9	121,4±13,1	127,8± 6,5	126,5± 8,6	
	Netzmittel	5	2448	100	117,9± 2,7	128,2± 8,8	123,9± 4,3	125,8± 9,7	
					+1,5	+6,8	−3,9	−0,7	
30	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	3	263	100	117,3± 6,8	98,0±12,1	103,7±15,1	98,0±22,2	104,3±17,5
	Netzmittel	3	366	100	96,0± 7,1	240,0±26,8	150,0±10,4	123,7±20,6	94,7± 4,5
					−21,3	**+142,0**	+46,3	+25,7	9,6

Tabelle 6

Vergleich der einzelnen Transpirationsarten bei verschiedener Behandlung

Die Zahlen geben die aus mehreren Pflanzen erhaltenen Durchschnitte der Transpiration in mg an und beziehen sich auf fünfstündige Versuchsperioden, Streuung nicht berücksichtigt

Behandlung	Zahl der Pflanzen Transpirationsart	Durchschnittliche Transpiration in 5 Stunden, ausgedrückt in mg					
		1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag
Kontrollen, am 3. Tage mit Wasser bespritzt	24 Pflanzen aus 6 Versuchen (23—28)						
	Gesamttranspiration	1861	2184	2258	2130	2163	2160
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (29)						
	Kutikulartranspiration	282	262	236	219	274	276
	Stomatäre Transpiration	1579	1922	2022	1911	1889	1884
Am 3. Tage bespritzt mit 0,06% $CuSO_4.5H_2O$ + Netzmittel	6 Pflanzen aus 1 Versuch (28)						
	Gesamttranspiration	1800	2245	1840	1730	1710	1850
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (29)						
	Dunkel-Transpiration	295	274	765	568	487	426
	Differenz	1505	1971	1075	1162	1223	1424
Am 3. Tage bespritzt mit 0,12% $CuSO_4.5H_2O$ + Netzmittel	6 Pflanzen aus 1 Versuch (25)						
	Gesamttranspiration	1935	2196	1580	1930	1935	2100
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (29)						
	Dunkel-Transpiration	302	282	850	660	644	554
	Differenz	1633	1914	730	1270	1291	1546
Am 3. Tage bespritzt mit 0,24% $CuSO_4.5H_2O$ + Netzmittel	6 Pflanzen aus 1 Versuch (26)						
	Gesamttranspiration	1757	1890	1418	1670	1908	1980
	3 Pflanzen aus 1 Versuch (30)						
	Dunkel-Transpiration	263	313	670	586	473	396
	Differenz	1494	1577	748	1084	1435	1584
Am 3. Tage bespritzt mit Netzmittel allein	5 Pflanzen aus 1 Versuch (33)						
	Gesamttranspiration	2448	2880	3152	3034	3058	
	3 Pflanzen aus 1 Versuch (30)						
	Dunkel-Transpiration	336	353	886	550	450	
	Differenz	2112	2527	2266	2484	2608	

Tabelle 7 Gesamttranspiration. Werte aus Eintauchversuchen

Behandlung am dritten Tage, zwei Stunden vor Versuchsbeginn

Versuch Nr.	Konz. der Lösung $CuSO_4.5H_2O$	Zahl der Pfl.	x, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
35	Kontrolle	6	2318	100	130,1± 8,1	133,0±23,8	138,3± 8,4	132,1±10,3	135,6± 8,2
	0,06%	6	2580	100	135,1±22,0	91,5±12,2	126,2±15,1	134,4± 9,8	135,0±16,3
					+5,0	**−41,5**	−12,1	+2,3	−0,6
34	Kontrolle	4	2668	100	122,3± 9,8	136,0±19,0	148,8±20,6	144,0±25,6	139,2±22,8
	0,12%	4	2502	100	116,8±10,1	87,3±15,4	113,3± 9,6	125,5± 9,0	124,3±11,5
					−5,5	**−48,7**	−35,5	−18,5	−14,9
	0,24%	4	2320	100	111,8± 8,1	81,5±15,1	99,2±12,9	119,0±15,0	121,1±19,3
					−10,5	**−54,5**	**−49,6**	−25,0	−18,1

Tabelle 8 Dunkel-Transpiration. Ergebnisse der Eintauchversuche

Behandlung am dritten Tage, zwei Stunden vor Beginn der ersten Messung

Versuch Nr.	Konz. der Lösung $CuSO_4.5H_2O$	Zahl der Pfl.	x, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
38	Kontrolle	4	230	100	94,5± 4,9	105,0± 6,6	89,5± 5,2	90,0± 7,9	97,5± 4,7
	0,06%	4	245	100	102,5± 9,7	101,8± 4,7	89,5±11,1	89,5±10,1	92,2± 9,3
					+8,0	−3,2	0,0	−0,5	−5,3
37	Kontrolle	4	200	100	102,0±19,7	116,0± 7,0	104,8± 2,9	110,0± 5,8	102,3±15,0
	0,12%	4	237	100	96,5± 2,8	146,5±11,6	148,8±32,7	144,8±23,9	120,0±16,3
					−5,5	**+30,5**	+44,0	+34,8	+17,7
	0,24%	4	237	100	92,5±11,0	170,8±14,0	171,5±11,6	170,2±25,5	139,8±28,9
					−9,5	**+54,8**	**+66,7**	**+60,2**	+37,5

Vorversuche haben gezeigt, daß bei den zur Anwendung gelangenden Konzentrationen eine Eintauchzeit von 30 Minuten am günstigsten ist. Bei 15 Minuten ist die Beeinflussung der Transpiration sehr gering, während bei einer Stunde die Pflanzen so sehr geschädigt werden, daß sie das Ende der Versuchsdauer, die auch hier 6 Tage betrug, oft nicht erlebten. In allen nachfolgend angegebenen Versuchen betrug die Dauer des Eintauchens 30 Minuten.

Gesamttranspiration. In dieser Reihe wurden drei Versuche mit steigenden Konzentrationen von Kupfersulfat durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 7 zusammengestellt.

Schlußfolgerung: Wie in den Versuchen, bei denen die Kupfersulfatlösung auf die Blätter gespritzt worden war, zeigt sich hier mit steigender Konzentration der Lösung eine zunehmende Transpirationserniedrigung. Auch hier ist die Erniedrigung nicht bleibend, sondern der Effekt verschwindet im Laufe der Tage wieder ziemlich schnell.

Dunkel-Transpiration. In gleicher Weise wie die oben beschriebenen Versuche wurde diese Versuchsreihe durchgeführt, nur erfolgte die Bestimmung der Wasserabgabe bei Dunkelheit. Die Ergebnisse sind in Tab. 8 zusammengestellt.

Schlußfolgerung: Durch Kupfersulfat wird die Transpiration im Dunkeln gefördert. Die Förderung wird bei 30-minutiger Eintauchzeit erst bei Konzentrationen von 0,12 % (= $4{,}8 \cdot 10^{-3}$ Mol/L) und höher wirksam und ist nicht so groß wie in den Spritzversuchen mit Netzmittelzusatz.

Einfluß der Sulfationen und der Azidität der Versuchslösung auf die Transpiration

Es handelt sich nun noch darum, abzuklären, ob die Beeinflussung der Transpiration durch Kupfersulfat auf dem Kupferion, auf dem Sulfation, oder auf der durch $CuSO_4$ verursachten Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration beruhe.

Dazu eignet sich die Eintauchmethode vorzüglich, da eine Lösung von bekannter Konzentration und bekanntem pH auf die Blätter einwirken kann, während durch Spritzen beide Größen sich während des Eintrocknens verändern.

Es wurde eine 0,01 normale Schwefelsäurelösung verwendet. Sie ist äquimolar mit einer 0,125 %igen Lösung von $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$.

Das pH dieser Schwefelsäurelösung beträgt 2,1, während jenes einer 0,12 %igen Kupfersulfatlösung zu $4{,}8 \pm 0{,}2$ bestimmt wurde.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 9 zusammengestellt.

Schlußfolgerungen: Durch 30-minutiges Eintauchen in 0,01 normale Schwefelsäurelösung wird weder die Dunkel- noch die Gesamt-

transpiration beeinflußt. Daraus ergibt sich, daß die in den bisherigen Versuchen gefundene Beeinflussung der Wasserabgabe allein auf die Wirkung des Cu-ions zurückzuführen ist.

Vergleich der einzelnen Transpirationsarten verschieden behandelter Pflanzen

In gleicher Weise wie bei den Spritzversuchen wurden auch hier die Transpirationswerte der gesamten, der kutikularen, resp. Dunkel- und der aus beiden Größen abgeleiteten stomatären, respektive Differenz-Transpiration in Milligrammen tabellarisch zusammengestellt (Tab. 10), und graphisch aufgetragen (Abb. 3).

Der Verlauf der Kurven gestaltet sich so, wie zu erwarten war. Durch Eintauchen der Blätter in Kupfersulfatlösungen wird die Gesamt-Transpiration in ungefähr gleichem Maße erniedrigt wie in den Spritzversuchen, während die Erhöhung der Dunkel-Transpiration geringer ist als bei diesen, da der Einfluß des Netzmittels wegfällt.

Deutlich geht auch aus der Abbildung hervor, daß weder Sulfationen noch tiefes pH die Transpiration beeinflussen.

Das auf S. 50 über die Zulässigkeit der Ausdrücke kutikulare und stomatäre Transpiration bei behandelten Pflanzen Gesagte gilt auch hier.

Tabelle 9 Gesamte und Dunkel-Transpiration nach Eintauchen der Blätter in eine 0,01 normale H_2SO_4-Lösung

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
36	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	4	3245	100	105,7± 4,9	103,6± 7,9	105,6± 7,9	104,0± 4,2	103,0± 2,5
	H_2SO_4	4	2540	100	115,0±10,0	111,7±14,0	114,8±14,3	116,0±11,4	110,0±12,3
					+9,3	+8,1	+9,2	+12,0	+7,0
38	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	4	230	100	94,5± 4,9	105,0± 6,6	89,5± 5,2	90,0± 7,9	97,5± 4.7
	H_2SO_4	4	265	100	94,8± 4,4	99,0± 7,9	77,5± 9,2	86,8±11,4	93,0± 4.5
					+0,3	−6,0	12,0	3,2	4,5

Tabelle 10

Vergleich der einzelnen Transpirationsarten bei verschiedener Behandlung

Die Zahlen geben die aus mehreren Pflanzen erhaltenen Durchschnitte der Transpiration in mg an und beziehen sich auf fünfstündige Versuchsperioden, Streuung nicht berücksichtigt

Behandlung (Eintauchzeit 30 Min.)	Zahl der Pflanzen Transpirationsart	Durchschnittliche Transpiration in 5 Stunden, ausgedrückt in mg					
		1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag
Kontrollen, am 3. Tage eingetaucht in H_2O	14 Pflanzen aus 3 Versuchen (34—36) **Gesamttranspiration**	2750	3270	3380	3600	3490	3270
	8 Pflanzen aus 2 Versuchen (37, 38) **Kutikulare Transpiration**	220	220	240	220	220	220
	Stomatäre Transpiration	2530	3050	3140	3380	3270	3050
Am 3. Tage eingetaucht in $CuSO_4.5H_2O$ **0,06%**	6 Pflanzen aus 1 Versuch (35) **Gesamttranspiration**	2580	3480	2400	3250	3400	3430
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (38) **Dunkel-Transpiration**	240	250	250	200	200	210
	Differenz	2340	3230	2150	3050	3200	3220
Am 3. Tage eingetaucht in $CuSO_4.5H_2O$ **0,12%**	4 Pflanzen aus 1 Versuch (34) **Gesamttranspiration**	2500	2920	2180	2810	3120	3100
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (37) **Dunkel-Transpiration**	240	230	350	360	350	290
	Differenz	2260	2690	1830	2450	2770	2810
Am 3. Tage eingetaucht in $CuSO_4.5H_2O$ **0,24%**	4 Pflanzen aus 1 Versuch (34) **Gesamttranspiration**	2320	2600	1880	2300	2760	2800
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (37) **Dunkel-Transpiration**	240	220	410	410	410	340
	Differenz	2080	2380	1470	1890	2350	2460
Am 3. Tage eingetaucht in H_2SO_4 0,01n	4 Pflanzen aus 1 Veruch (36) **Gesamttranspiration**	2530	2910	2830	2910	2930	2780
	4 Pflanzen aus 1 Versuch (38) **Dunkel-Transpiration**	260	250	260	210	230	250
	Differenz	2270	2660	2570	2700	2700	2530

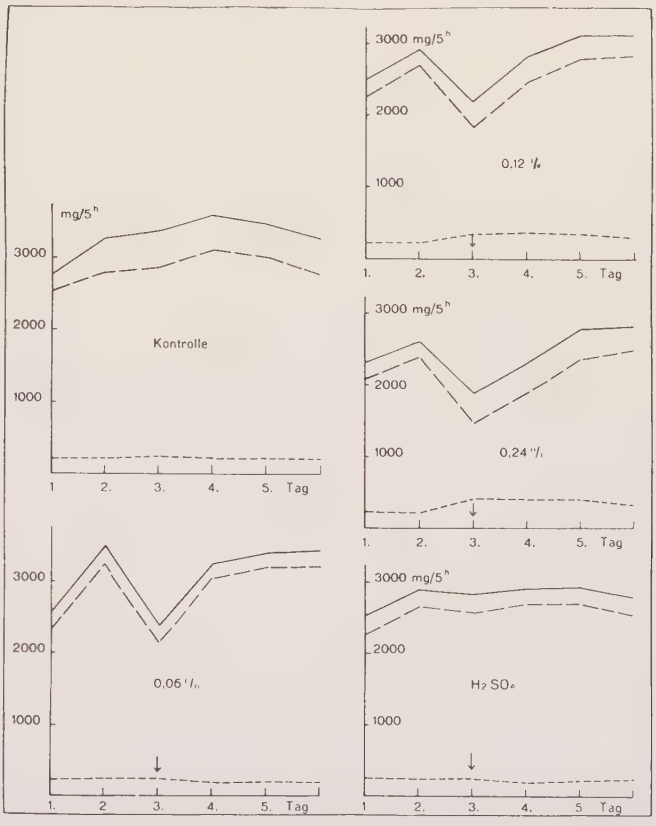


Abb. 3. Vergleich der einzelnen Transpirationsarten bei verschiedener Behandlung, zusammengestellt aus Eintauchversuchen.

Ordinaten: Wasserverlust am betreffenden Tage während 5 Stunden in mg. (Vgl. Tab. 10)
Abszissen: Tage.
——— = Gesamttranspiration
- - - - - = Dunkel-Transpiration (= kutikulare Transp. bei unbehandelten Pflanzen)
– – = Differenz zwischen Gesamt- und Dunkel-Transpiration (= stomatäre Transp. bei unbehand. Pflanzen)
Pfeil: Tag der Behandlung
Werte %: Konzentration der Kupfersulfatlösung

Weitere Erklärungen im Text

B. Versuche mit schwerlöslichen, reinen Kupferverbindungen

Allgemeine Bemerkungen

In der Schädlingsbekämpfung wird Kupfer nie in leichtlöslichen Verbindungen wie Sulfat oder Azetat gespritzt, da diese einerseits Schädigungen verursachen, andererseits vom Regen leicht abgewaschen werden. Es kommen nur Brühen in Frage, die sehr geringe Mengen von Kupferionen abspalten.

Entweder gebraucht man Suspensionen schwerlöslicher Verbindungen, oder, wie im Falle der Bordeauxbrühe, die Lösung einer Kupfer-Komplexverbindung.

In diesem Kapitel werden Versuche beschrieben, die zum Zwecke hatten, den Einfluß schwerlöslicher Kupferverbindungen auf die Transpiration abzuklären. Zur Prüfung kamen Kupferoxydul (Cu_2O), Cuprioxyd (CuO) und Kupferkarbonat.

Auf Spritzversuche wurde verzichtet, da ohne Netzmittelzusatz nur ein sehr schlechter Belag erzielt wird. Die Versuchsbedingungen waren dieselben wie in den Tauchversuchen mit Kupfersulfat. Als einzige Abänderung

wurde eine längere Eintauchzeit gewählt. Dies darum, weil ein Vorversuch gezeigt hatte, daß nach 30-minutigem Eintauchen weder die kutikulare noch die gesamte Transpiration in irgend einer Weise beeinflußt worden war. Die Blätter wurden daher während 90 Minuten in die Brühe getaucht. Eine noch längere Behandlungszeit konnte nicht gewählt werden, weil dadurch die Transpirationswerte — auch bei den Kontrollen — von Pflanze zu Pflanze allzu unterschiedlich wurden, so daß Streuungen von 50 % und mehr auftraten.

Unmittelbar vor dem Eintauchen wurde die Brühe im Gefäß gut durchgerührt. Im Verlaufe der Zeit setzten sich jeweils die Teilchen ab, wobei sie sich auch auf den Blättern ablagerten. Trotz gründlichem Abschwenken in reinem Wasser und Abspritzen mit dem Zerstäuber, gelang es jeweils nicht, den Belag überall restlos zu entfernen. Vor allem entlang der Mittelrippe setzte er sich hartnäckig fest. Immerhin waren die größten Teile des Blattes und, wie im Mikroskop festgestellt werden konnte, vor allem die Interkostalfelder, nach dem Abbrausen stets frei von Rückstand. Nach der Behandlung wurde auch hier jeweils zwei Stunden gewartet, bis die Blätter vollständig trocken waren, und dann mit den Wägungen begonnen.

Die Konzentration betrug in diesen Versuchen überall 5 g pro Liter. Es ergab sich eine gute, reichlich dichte Suspension.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 11, 12 und 13 zusammengestellt. Bei allen drei Mitteln zeichnet sich die Tendenz ab, daß nach der Behandlung die Gesamt-Transpiration erniedrigt und die Dunkel-Transpiration erhöht wird. Jedoch sind die Unterschiede gegenüber den Kontrollen nirgends statistisch gesichert. Am geringsten ist die Beeinflussung durch Kupferoxydul, am stärksten jene durch Karbonat, wo sich für beide Transpirationsunterschiede ein t ergibt, das einem zwischen 0,05 und 0,02 liegenden P-Wert entspricht. Wir betrachten jedoch, wie früher erwähnt, einen Unterschied erst als gesichert, wenn die Wahrscheinlichkeit der Sicherung mindestens 1 : 0,01 beträgt.

Als Schlußfolgerung ergibt sich, daß die Transpirationstätigkeit nicht deutlich beeinflußt wird, wenn die Blätter während 90 Minuten in eine 0,5 %ige Aufschwemmung von Kupferoxydul, Cuprioxyd oder Kupferkarbonat eingetaucht werden.

C. Versuche mit im Handel erhältlichen fungiziden Kupferpräparaten

Allgemeine Bemerkungen

In allen bis anhin beschriebenen Versuchen sind für die Behandlung der Pflanzen ausschließlich analysenreine Kupferverbindungen verwendet worden. Es lag auf der Hand, daneben auch einige in der Praxis gebrauchte

Tabelle 11 Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage während 90 Minuten eingetaucht in eine 0,5 %ige Aufschwemmung von Kupferoxydul

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
41	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	6	2410	100	93,0±16,6	116,7±30,6	116,3±21,0	133,0±40,6	120,5±27,9
	Cu_2O	6	1870	100	95,2±16,7	108,0±18,8	95,8±22,0	114,8±19,0	109,3±16,9
					+2,2	−8,7	−20,5	−18,2	−11,2
47	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	3	287	100	104,7± 3,9	122,7±22,2	110,0±29,1	115,3±21,1	109,0±15,9
	Cu_2O	4	290	100	113,0±21,3	139,0±29,5	150,5±30,0	135,0±18,7	125,5±25,5
					+8,3	+16,3	+40,5	+19,7	+16,5

Tabelle 12 Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage während 90 Minuten eingetaucht in eine 0,5 %ige Aufschwemmung von Cuprioxyd

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
39	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	2928	100	113,4±12,4	115,0±10,9	110,8± 9,8	122,6± 9,3	118,4±12,3
	CuO	6	2587	100	116,3±17,1	114,7±12,9	118,2±19,3	136,0±20,2	129,8±17,4
					+2,9	0,3	+7,4	+13,4	+11,4
47	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	3	287	100	104,7± 3,9	122,7±22,2	110,0±29,1	115,3±21,1	109,0±15,9
	CuO	4	310	100	122,5±17,2	162,0±33,0	133,5±12,8	134,0±14,4	114,5±15,5
					+17,8	+39,3	+23,5	+18,7	+5,5

Kupferspritzmittel zu prüfen. Es konnte sich dabei nicht darum handeln, sämtliche der sehr zahlreichen Handelspräparate durchzutesten. Die Untersuchungen wurden auf deren drei beschränkt, nämlich auf Virikupfer, ein Kupfer-oxychlorid-Präparat, Cupromaag, ein Kupferkarbonatmittel, und Kukaka, Kupfer-Casein-Kalkbrühe, eine Bordeauxbrühe mit Caseinzusatz, alle hergestellt von der Firma Dr. R. Maag in Dielsdorf.

Wie in der Praxis, wurde die Brühe auf die Blätter gespritzt, und zwar sowohl auf die Blattober- als auch auf die Blattunterseite. Eintauchversuche wurden keine durchgeführt.

Alle drei Mittel gaben auf den Blättern einen gleichmäßigen Belag. Nach dem Spritzen wurde bis zur Wägung zwei Stunden zugewartet, so daß die Blätter vollständig trocknen konnten. Die Kontrollpflanzen wurden mit destilliertem Wasser gespritzt. Die Behandlung erfolgte wie immer am dritten Tage. Auch alle andern Versuchsbedingungen waren dieselben wie in den früheren Versuchen.

Ergebnisse

In den Tabellen 14, 15 und 16 sind die Ergebnisse als Durchschnittswerte aus täglich fünfstündiger Meßperiode zusammengestellt.

Aus den Zusammenstellungen ist ersichtlich, daß durch Virikupfer die Transpiration nicht beeinflußt wird.

Aus dem Bespritzen mit Bordeauxbrühe resultierte eine beträchtliche Erhöhung der Dunkel-Transpiration, jedoch ist, infolge der großen Streuung diese Erhöhung nicht gesichert. Die Gesamttranspiration wird in geringem Maße erniedrigt. Die Erniedrigung liegt innerhalb der Streuung.

Cupromaag beeinflußt die Gesamttranspiration nicht, während die Wasserabgabe im Dunkeln unmittelbar nach der Bespritzung stark erhöht wird. Für diese Erhöhung kommen zwei Faktoren als verantwortlich in Betracht. Erstens das Kupferkarbonat selber, welches der wirksame Bestandteil des Cupromaag ist. In den Versuchen mit reinem Kupferkarbonat (Tab. 13) hat sich ja dieselbe Wirkung, nur undeutlicher, gezeigt. Zweitens könnte auch das dem Präparat beigefügte Netzmittel zur Erhöhung beigetragen haben. Welcher Art dieses Netzmittel ist, ist nicht bekannt, doch wurde von der Herstellerfirma bestätigt, daß ein solches beigemischt ist, und daß es sich dabei um ein andersartiges als das im Virikupfer enthaltene handelt.

Schlußfolgerung: Von den drei untersuchten Spritzmitteln beeinflußt keines die Gesamttranspiration deutlich. Eine Erhöhung der Transpiration im Dunkeln wird durch Kukaka andeutungsweise bewirkt, während sie durch Cupromaag unmittelbar nach der Behandlung mit Sicherheit festzustellen ist.

Tabelle 13 Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage während 90 Minuten eingetaucht in eine 0,5 %ige Aufschwemmung von Kupferkarbonat

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
46	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	2094	100	115,6± 11,6	118,0±15,6	122,4±18,2	115,6±12,8	115,8± 5,0
	Cu-Carbonat	6	2292	100	106,0± 7,0	98,2± 7,6	108,3± 9,0	105,7± 5,5	108,6± 4,1
					−9,6	−19,8	−14,1	−9,9	−7,2
47	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	3	287	100	104,7± 3,9	122,7±22,2	110,0±29,1	115,3±21,1	109,0±15,9
	Cu-Carbonat	4	360	100	110,0±23,9	164,5±21,1	158,5±24,0	124,0±18,2	110,2±27,5
					+ 5,3	+ 41,8	+48,5	+8,7	+ 1,2

Tabelle 14 Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage bespritzt mit einer 0,5 %igen Virikupferbrühe. Kontrollen mit Wasser bespritzt

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
53	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	2423	100	110,6± 8,5	103,2± 4,4	93,8±13,1	97,8± 7,6	103,8± 5,8
	Virikupfer	6	2444	100	110,0± 9,1	95,2± 5,0	97,8± 9,9	95,3± 9,7	103,5± 5,7
					−0,6	−8,0	+4,0	−2,5	−0,3
53a	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	5	270	100	92,0±10,9	123,0±12,5	89,2± 9,0	106,0± 6,8	99,0±19,5
	Virikupfer	6	277	100	96,7±17,8	117,8±15,0	93,0± 8,5	105,3± 7,8	96,7±17,2
					+4,7	−5,2	+3,8	−0,7	−2,3

D. Potetometerversuche zur Abklärung der Wirkung genau dosierter, durch den Stengel aufgenommener Mengen von Kupfersulfat

Allgemeine Bemerkungen

In allen bis anhin beschriebenen Versuchen wirkte das Kupfer von außen her auf die Pflanzen ein, indem die Blätter entweder mit der Brühe bespritzt oder in sie eingetaucht wurden. Um das Problem der Einwirkung von Kupfer auf die Transpiration noch von einer zweiten Seite her zu beleuchten, wurde eine andersartige Versuchsmethodik gewählt. Die abgeschnittenen Pflanzen nahmen das Kupfer in Form einer Sulfatlösung durch den Stengel auf. Es ergab sich dadurch die Möglichkeit, erstens die verabreichte Dosis genau zu bestimmen und zweitens neben der Wasserabgabe auch die Aufnahme zu verfolgen. Die im folgenden beschriebene Versuchsmethodik stützt sich zur Hauptsache auf das von GÄUMANN und JAAG, 1947 entwickelte Verfahren.

Beschreibung der Versuche

Temperatur, Feuchtigkeit und Lichtverhältnisse im Versuchsraum, sowie Sorte, Vorbehandlung und Alter der Pflanzen waren dieselben wie in allen bisherigen Versuchen. Am Ende der zweitägigen Akklimatisierungsperiode wurde die Pflanze mit einer Rasierklinge über dem Boden abgeschnitten, gewogen und ins Potetometer eingeführt. Dieses bestand aus einem etwa 150 cc Flüssigkeit fassenden Becherglas, das mit einem Gummipfropfen wasserdicht verschlossen war. Der Pfropfen enthielt drei Löcher. Durch das eine wurde die Pflanze eingeführt und hernach mit einem Paraffin-Vaseline-Gemisch abgedichtet; das zweite enthielt ein mit Gummischlauch und Quetschhahn verschließbares Glasrohr, durch welches die Flüssigkeit eingefüllt werden konnte, und in das dritte war das Potetometerrohr eingeführt. Dieses war in die Horizontallage abgebogen. Auf der Unterseite war ein Streifen Millimeterpapier aufgeklebt, auf welchem der Stand des scharfen Meniskus genau abgelesen werden konnte. Durch vorherige Eichung war es dann möglich, die in cm gemessene Wasseraufnahme auf cc umzurechnen. Es wurden jeweils sechs solcher Potetometer gleichzeitig in Betrieb gehalten. Sie standen in einer Reihe auf dem Gestell vor den Fluoreszenzlampen, in gleicher Weise wie in den früheren Versuchen die Töpfe.

Die durch das Abschneiden bedingte traumatische Störung der Wasserbilanz dauerte etwa vier Stunden. Nachher verliefen Wasseraufnahme und Wasserabgabe bei unbehandelten Pflanzen mehr oder weniger linear. Die Messungen wurden daher vier Stunden nach dem Einführen der Pflanzen in die Potetometergefäße begonnen. Zur Bestimmung der Wasserabgabe wurde dieselbe halbautomatische Schnellwaage benützt, die schon früher zur Transpirationsmessung eingetopfter Pflanzen verwendet worden war. Die Wägungen erfolgten anfangs stündlich, später in zweistündigen und gegen Ende des Versuches in fünfstündigen Intervallen.

Tabelle 15

Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage bespritzt mit einer 0,5 %igen Cupromaagbrühe. Kontrollen mit Wasser bespritzt

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
54	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	2310	100	104,4± 8,6	104,6± 9,7	105,2±10,1	104,0±13,6	104,8±13,2
	Cupromaag	6	2211	100	109,8± 9,4	103,8±12,2	100,5±13,3	117,0±13,8	112,8± 5,6
					+5,4	−0,8	4,7	+13,0	+8,0
54a	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	5	207	100	93,6±10,8	107,6±18,6	112,0±31,4	113,4±26,4	104,0±14,0
	Cupromaag	6	267	100	94,8±10,2	186,8±22,2	175,3±26,1	137,7±44,0	130,0±16,4
					+1,2	**+79,2**	+ 63,3	+24,3	+ 26,0

Tabelle 16

Dunkel- und Gesamt-Transpiration

Behandlung: Blätter am dritten Tage bespritzt mit einer 1,5 %igen Kukakabrühe. Kontrollen mit Wasser bespritzt

Versuch Nr.	Art der Transpiration und Behandlung	Zahl der Pfl.	$\bar{x}$, mg 1. Tag	Durchschnittliche Transpiration in % des ersten Tages					
				1. Tag	2. Tag	3. Tag Behandlung	4. Tag	5. Tag	6. Tag
50	**Gesamttransp.**								
	Kontrolle	5	3516	100	99,0± 8,5	99,6± 7,6	116,8±10,5	108,6±23,1	111,2±15,2
	Kukaka	6	3611	100	98,7± 7,3	88,1±18,4	111,5±19,3	112,7±21,2	109,0±15,0
					−0,3	−11,5	−5,3	+4,1	−2,2
52	**Dunkel-Transp.**								
	Kontrolle	5	290	100	121,6±18,4	118,8±40,8	124,8±32,2	124,2±10,8	106,2±10,0
	Kukaka	6	270	100	101,8±22,1	162,5±40,5	120,8±30,2	126,3±31,6	115,8±19,9
					−19,8	+43,7	−4,0	+2,1	+9,6

Die Verabreichung des Kupfers erfolgte in der Weise, daß der Gummipfropfen mitsamt der Pflanze und dem Potetometerrohr abgehoben, und das Gefäß mit einer 0,05 prozentigen Lösung von $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ gefüllt wurde. Die Molarität einer solchen Lösung entspricht angenähert dem Wert von $2 \cdot 10^{-3}$. Die Pflanzen wurden so lange in der Lösung belassen, bis sie die gewünschte Menge aufgenommen hatten. Sollten einer 2,5 g schweren Pflanze 200 mg $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ pro kg Frischgewicht verabfolgt werden, so mußte sie 1,0 cc der obigen Lösung aufnehmen. Hernach wurden Gefäß und Potetometerrohr gründlich ausgespült und wieder mit Wasser gefüllt. Bei den Kontrollpflanzen wurden jeweils dieselben Manipulationen ausgeführt, mit dem Unterschied, daß das Wasser anstatt durch Kupfersulfatlösung wieder durch Wasser ersetzt wurde. Dieses Auswechseln der Flüssigkeit nahm für jedes Gefäß die Zeit von knapp einer Minute in Anspruch und verursachte bei den Kontrollpflanzen keinerlei Störungen der Wasserbilanz.

Ergebnisse

Die im folgenden wiedergegebenen Kurven beziehen sich auf je eine Pflanze. Sie wurden aus einem reicheren Tatsachenmaterial als typisch ausgelesen. Auf den Abszissen ist die Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn aufgetragen, auf den Ordinaten die Wasserabgabe, resp. -aufnahme in g. Die nach unten weisenden Pfeile geben den Zeitpunkt des Einführens in Kupfersulfatlösung, und die nach oben weisenden Pfeile das Ende der Aufnahmezeit an. Bei den Kontrollen bedeuten die Pfeile lediglich Wasserwechsel. Die ausgezogenen Kurven sind jene der Wasserabgabe, die gestrichelten jene der Wasseraufnahme. Abb. 4 zeigt die Wasserbilanz der Kontrollpflanzen während 50 Stunden im Dunkeln und im Licht. Aufnahme und Abgabe von Wasser halten sich beiderorts ungefähr die Waage. Die Transpiration bei Licht ist nur knapp doppelt so groß wie im Dunkeln, während sie bei eingetopften Pflanzen mehr als das Zehnfache beträgt (vgl. Tab. 10).

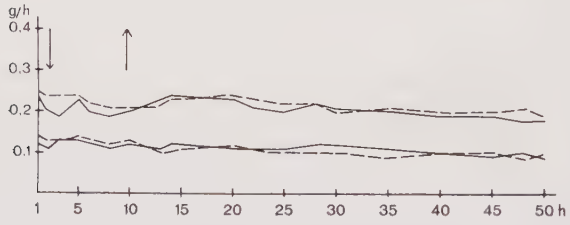


Abb. 4. Obere Kurven: Wasserbilanz einer abgeschnittenen Bohnenpflanze im Lichte.
Untere Kurven: Wasserbilanz einer abgeschnittenen Bohnenpflanze im Dunkeln.
——— = Wasserabgabe
- - - - - - = Wasseraufnahme
Ordinate: Wasserabgabe, resp. -aufnahme in g/h
Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn
Pfeile: Wasserwechsel. Erklärung im Text

Abb. 5 gibt die Antwort auf die Frage: Wie wird der Wasserhaushalt beeinflußt durch Aufnahme von 200 mg $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ pro kg Frischgewicht, wenn die Pflanze belichtet wird? Das Gewicht der abgeschnittenen Pflanze betrug 3,4 g. Unmittelbar nach dem Einstellen in die Kupfersulfatlösung steigt die Wasseraufnahme sehr stark an. Diese gierige Wasseraufnahme ist gefolgt von einem Ansteigen der Transpiration. Im Verlaufe der nächsten 15 Stunden sinken beide Kurven zunächst steiler, dann lang-

samer ab. Dann verlaufen sie während weiterer 15 Stunden mehr oder weniger stetig, wobei die Transpiration um weniges größer ist als die Aufnahme. Beide Vorgänge sind während dieser Zeit, verglichen mit der Kontrolle (Abb. 4) um ungefähr die Hälfte reduziert. Von der 35. Stunde an nimmt die Transpiration weiterhin ab. Die Wasseraufnahme geht gegen Null.

Abb. 6 zeigt dasselbe an einer anderen, gleichbehandelten Pflanze (Gewicht: 4,0 g). Sie wurde jedoch nach Ablauf von 26 Stunden nochmals in die Kupfersulfatlösung übertragen. Die Pflanze reagiert im selben Sinne wie bei der ersten Behandlung, nur schwächer.

Abb. 7 stellt die Verhältnisse dar, wie sie sich durch Aufnahme von 200 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ pro kg im Dunkeln gestalten. Das Gewicht der Pflanze betrug 3,5 g. Auch hier zeigt sich ein Ansteigen der Wasseraufnahme und der Transpiration, nur erfolgt dieses Ansteigen hier viel langsamer und die Kurven erreichen ihren Kulminationspunkt 15 Stunden später als bei belichteten Pflanzen. Ferner ist keine Übersteigerung der Wasseraufnahme, verglichen mit der Transpiration feststellbar.

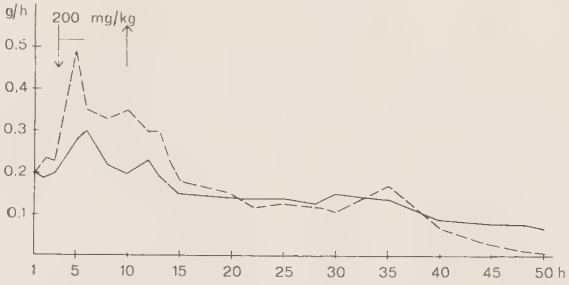


Abb. 5. Wasserbilanz einer abgeschnittenen Bohnenpflanze im Lichte bei Aufnahme von 200 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ pro kg Frischgewicht.
——— = Wasserabgabe
- - - - - - = Wasseraufnahme
Ordinate: Wasserabgabe, resp. -aufnahme in g/h
Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn
Pfeile: Flüssigkeitswechsel. Erklärung im Text

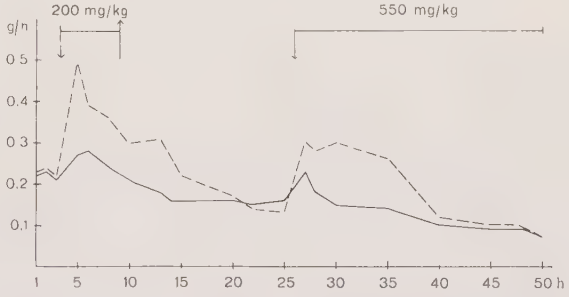


Abb. 6. Wasserbilanz einer abgeschnittenen Bohnenpflanze im Lichte bei zweimaliger Aufnahme von Kupfersulfat
——— = Wasserabgabe
- - - - - - = Wasseraufnahme
Ordinate: Wasserabgabe, resp. -aufnahme in g/h
Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn
Pfeile: Flüssigkeitswechsel. Erklärung im Text

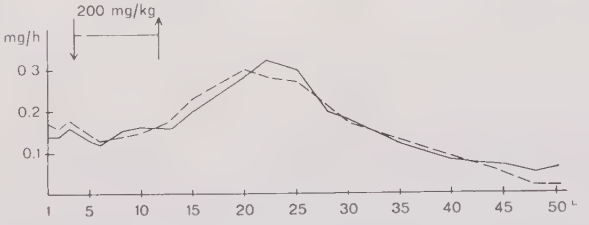


Abb. 7. Wasserbilanz einer abgeschnittenen Bohnenpflanze im Dunkeln bei Aufnahme von 200 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ pro kg Frischgewicht.
——— = Wasserabgabe
- - - - - - = Wasseraufnahme
Ordinate: Wasserabgabe, resp. -aufnahme in g/h
Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

Bevor der Versuch unternommen wird, die bis anhin mitgeteilten Ergebnisse untereinander zu vergleichen und zu deuten, sollen in den beiden nächsten Abschnitten einige weitere Untersuchungen beschrieben werden, um dann noch kurz auf die durch Kupfer verursachten Schädigungen einzugehen.

E. Versuche mit Kobaltchlorürpapier

Die von STAHL, 1894 entwickelte Kobaltmethode erlaubt es, die Wasserabgabe der Ober- und der Unterseite eines Blattes gleichzeitig zu erfassen. Allerdings werden dabei nur relative Werte erhalten. Die Methode beruht darauf, daß trockenes, blau gefärbtes Kobaltchlorür sich bei Wasseraufnahme rot färbt. Das allgemein übliche und in den Lehrbüchern beschriebene Verfahren, wonach das Blatt zwischen zwei mit Kobaltchlorürlösung getränkte und hernach getrocknete Fließblätter gelegt wird, hat sich als unzweckmäßig erwiesen, weil der Endpunkt des Umschlages von blau nach rot nur sehr ungenau erfaßt werden kann.

Erheblich genauer kann die Rötungszeit bestimmt werden, wenn das Kobaltpapier auf folgende Weise hergestellt wird: Auf die Mitte dünner, runder Nutschenfilterpapiere von etwa 12 cm Durchmesser gibt man aus einer Pipette einen Tropfen einer 3-prozentigen Kobaltchlorürlösung. Die Flüssigkeit verteilt sich gleichmäßig, so daß ein kreisrunder Fleck von etwa 2 cm Durchmesser entsteht. Hernach wird das Papier bei 50 ° C getrocknet und im Exsiccator aufbewahrt. Der nun blaue Fleck ist außen durch einen dunkler gefärbten, schmalen Ring scharf begrenzt, während im Innern das Kobaltchlorür homogen verteilt ist.

Zwischen zwei solcher Papiere wird das Blatt so gelegt, daß der blaue Fleck im oberen Drittel neben die Mittelrippe zu liegen kommt. Zwischen zwei Glasplatten wird leicht gepreßt, damit sich das Blatt gut an die Papiere anschmiegt. Zuerst rötet sich nun der innere Teil des Flecks, während der Ring noch blau bleibt; dann beginnt auch er sich violett und später rot zu verfärben. Auf diese Weise gewinnt man zwei Rötungszeiten, von denen man das Mittel nimmt. Die Streuungen sind von Blatt zu Blatt und von Pflanze zu Pflanze groß. Sie können vermindert werden, indem man das Blatt unmittelbar vor der Messung zwischen zwei Fließpapieren eine Minute lang vortrocknet.

Ergebnisse

In Tabelle 17 sind die Rötungszeiten zusammengestellt. Die Pflanzen waren unter denselben Bedingungen gehalten worden wie jene, für die in den früheren Kapiteln beschriebenen Transpirationsversuche. Die Blätter eingetopfter Bohnenpflanzen wurden während einer Stunde in 0,05 %ige (entsprechend einer angenähert $2 \cdot 10^{-3}$ molaren) Lösung von $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ getaucht, und hernach mit Wasser abgespült. Die Messungen erfolgten fünf Stunden darauf, in der Weise, daß die Blätter abgeschnitten, und nach dem Vortrocknen unmittelbar zwischen die Kobaltpapiere gelegt wurden.

Tabelle 17

Rötungszeiten von Kobaltpapier mit Blättern behandelter und unbehandelter Pflanzen

Zahlen = Mittelwerte aus je zehn Ablesungen, auf halbe Minuten auf- oder abgerundet

Lichtverhältnisse	Behandlung	Rötungszeit in Minuten	
		Blattunterseite	Blattoberseite
Dunkel	unbehandelt	24,0 ± 15,0	49,0 ± 21,5
	behandelt	5,0 ± 4,0	26,0 ± 14,5
Belichtet	unbehandelt	2,5 ± 1,0	20,5 ± 12,5
	behandelt	4,5 ± 2,0	26,0 ± 10,5

Trotz der zum Teil sehr großen Streuungen, lassen sich aus der Tabelle doch folgende wesentlichen Ergebnisse herauslesen:

1. Im Dunkeln ist die Wasserabgabe von Blättern, die mit Kupfersulfat behandelt worden waren, sowohl auf der Blattunterseite als auch auf der Blattoberseite bedeutend größer als jene unbehandelter Pflanzen.

2. Bei Belichtung ist die Wasserabgabe behandelter Pflanzen sowohl auf der Blattunterseite als auch auf der Blattoberseite kleiner als die Wasserabgabe unbehandelter Pflanzen.

3. Die Wasserabgabe ist im Dunkeln bei behandelten Pflanzen auf der entsprechenden Blattseite ungefähr gleich groß wie bei Belichtung.

F. Untersuchungen über den Öffnungszustand der Stomata

Da die Transpiration mit dem Öffnungszustand der Stomata in engem Zusammenhang steht, interessierte die Frage, ob und in welcher Weise das Kupfer den Öffnungs- und Schließmechanismus beeinflusse. Es ist nicht einfach, weder durch direkte noch durch indirekte Methoden nachzuweisen, ob die Stomata von Bohnenblättern geöffnet oder geschlossen seien. Am besten erwies sich die Collodiumhautmethode. Eine 4 %ige ätherische Lösung von Collodium wird mit einem weichen Pinsel auf das Blatt gestrichen. Nach wenigen Sekunden ist der Äther verdampft und das Collodium kann als Haut mühelos abgezogen werden. Auf ihr ist die Epidermis als Negativ abgedruckt. Auch mit dieser Methode gelingt es nicht, feinere strukturelle Einzelheiten zu erfassen. So sieht man beispielsweise keinen deutlichen Unterschied zwischen geschlossenen und leicht geöffneten Stomata. Bei unbehandelten Blättern im Versuchsraum erscheinen auf der Collodiumhaut auch bei Belichtung die Spaltöffnungen geschlossen, obschon kein Zweifel besteht, daß sie, wenn auch anscheinend nur leicht, geöffnet sind. Dies geht daraus hervor, daß die Transpiration bei Belichtung rund zehnmal größer ist als im Dunkeln. Abb. 8 zeigt einen Abdruck der Blattunterseite einer im Dunkeln gehaltenen, unbehandelten Pflanze mit geschlossenen Stomata. An einem hellen Tag im Gewächshaus jedoch, wo die Lichtinten-

sität erheblich größer ist als im Versuchsraum, ist ein gewisser Prozentsatz von Stomata auf der Blattunterseite deutlich als geöffnet zu erkennen (Abb. 9 links). Die Stomata auf der Blattoberseite erscheinen dagegen auch bei heller Beleuchtung geschlossen (Abb. 9 rechts).

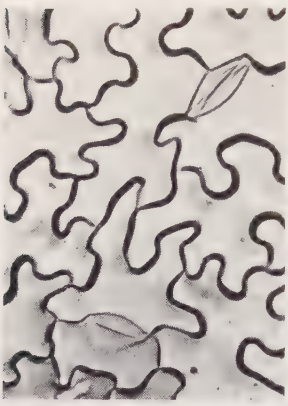


Abb. 8. Collodiumabdruck der Blattunterseite einer im Dunkeln gehaltenen, unbehandelten Bohnenpflanze. Stomata geschlossen. Vergrößerung 1 : 375

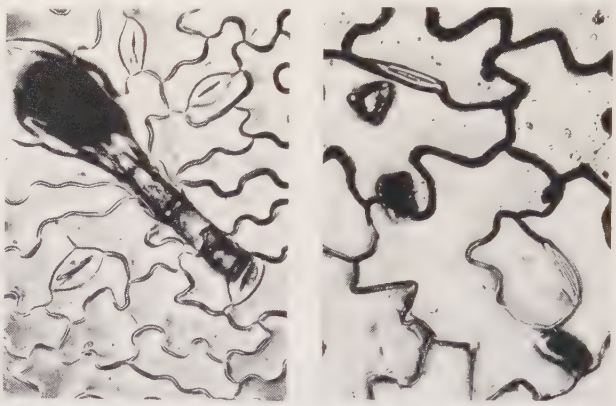


Abb. 9. Collodiumabdruck eines belichteten, unbehandelten Blattes. Links: Blattunterseite mit geöffneten Stomata. Rechts: Blattoberseite mit geschlossen erscheinenden Stomata. Vergr. 1 : 375

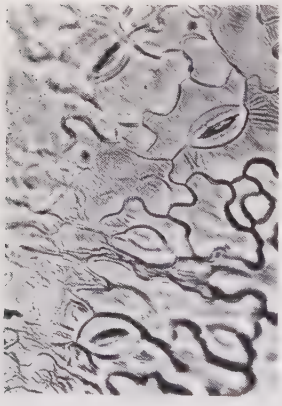
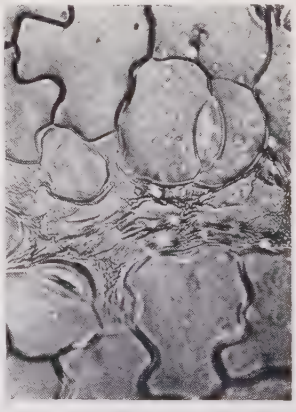


Abb. 10. Collodiumabdruck einer im Dunkeln gehaltenen Pflanze. Behandlung: Blätter während einer Stunde in 0,5 %ige Kupfersulfatlösung getaucht.

Links: Blattunterseite mit weit geöffnetem Stomata.

Rechts: Blattoberseite mit ebenfalls geöffnetem Stomata.

Vergrößerung 1 : 375



Um den Einfluß von Kupfer abzuklären, wurden die Pflanzen mit einer relativ stark konzentrierten, nämlich einer 0,5 %igen (= angenähert $2 \cdot 10^{-2}$ molaren) Kupfersulfatlösung behandelt, damit, wenn ein Einfluß auf den Öffnungsmechanismus besteht, dieser stark und deutlich sichtbar sei. Ferner wurde der Versuch an einem hellen Tage im Gewächshaus durchgeführt, um einen großen Unterschied zwischen Licht und Dunkelheit zu erhalten. Zur Verdunkelung wurde eine große Kiste über die Pflanzen

gestülpt und mit einem schwarzen Tuche bedeckt. Nach zweistündiger Verdunkelungsperiode wurden belichtete und verdunkelte Pflanzen wie folgt behandelt: Ein Teil wurde während einer Stunde mit den Blättern in die Kupfersulfatlösung eingetaucht, und hernach mit Wasser gut abgespült. Ein anderer Teil wurde abgeschnitten und in die Lösung eingestellt, bis jede Pflanze 500 mg $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ pro kg Frischgewicht aufgenommen hatte. Die Kontrollen wurden in gleicher Weise mit dest. Wasser behandelt.

Drei Stunden darauf wurde der Collodiumabdruck genommen; dann wurden je 100 Stomata ausgezählt und die Anzahl der geöffneten und der geschlossen erscheinenden festgestellt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 aufgeführt.

Tabelle 18

Öffnungszustand der Stomata behandelter und unbehandelter Pflanzen

Behandlung	Lichtverhältnisse	Als geöffnet erkennbare Stomata in %	
		Blattunterseite	Blattoberseite
Blätter eingetaucht in Wasser	hell	61	0
	dunkel	0	0
Blätter eingetaucht in Kupfersulfat	hell	85	21
	dunkel	84	25
Stengel eingestellt in Wasser	hell	58	0
	dunkel	0	0
Aufn. 500 mg/kg Kupfersulfat durch Stengel	hell	80	24
	dunkel	81	20

Abb. 10 zeigt weit geöffnete Stomata auf der Blattunterseite und leichter geöffnete auf der Blattoberseite einer im Dunkeln gehaltenen, behandelten Pflanze.

Die Ergebnisse dieser Versuche können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. Nach der Behandlung mit Kupfersulfat — gleichgültig, ob dieses durch Eintauchen der Blätter oder durch Einstellen des Stengels verabreicht wird — sind bei Belichtung die Stomata stärker geöffnet als bei den Kontrollen.

2. Im Dunkeln sind die Stomata behandelter Pflanzen ebenso stark geöffnet wie im Licht.

3. Auch die Stomata der Blattoberseite, die selbst bei Belichtung mit der Collodiummethode nicht als geöffnet zu erkennen sind, öffnen sich nach der Behandlung mit Kupfersulfat bei Belichtung wie im Dunkeln teilweise weit.

G. Durch Kupfermittel an den Pflanzen verursachte Schädigungen

Kupfersulfat ist ein sehr schweres Pflanzengift. Es ruft bereits in Dosen von 150 mg pro kg Frischgewicht an Bohnen deutlich erkennbare Schädigungen hervor und ist damit in seiner Toxizität mit Welkestoffen, wie Lycomarasmin und Fusarinsäure, vergleichbar. Die grobsinnlich wahrnehmbaren Schädigungen bestehen allerdings nicht in einem Welkwerden, sondern lediglich in der Bildung von Nekrosen an den Blättern. Nur wenn bei Aufnahme von hohen Dosen durch den Stengel auch dieser geschädigt wird, erschlaffen die Blätter infolge Unterbindung der Wasserzufuhr. Bei den im Abschnitt D beschriebenen Potetometerversuchen, wo die Pflanzen jeweils 200 mg/kg aufnahmen, traten solche Stengelschädigungen auf und gegen das Ende der Versuchszeit begannen die Blätter deutlich zu welken.

Die Nekrosen kennzeichnen sich als graugrüne, durchscheinende, pergamentartige meist runde Flecken auf der Blattspreite. Sie traten sowohl in den Spritz- wie in den Eintauchversuchen bereits bei Kupfersulfatkonzentrationen von 0,06 % auf und nahmen mit steigender Konzentration zu. Bei Anwendung von 0,24 %igen Lösungen war jeweils drei Tage nach der Behandlung etwa 1/4 der gesamten Blattfläche nekrotisch. Trotzdem war die Pflanze noch voll turgeszent. Auch die übrigen Kupfermittel verursachten in den meisten Fällen Verbrennungen. Diese waren allerdings immer nur geringfügig.

Bei Aufnahme des Kupfers durch den Stengel verfärben sich zuerst die Blattrippen bis in ihre feinsten Verzweigungen hinaus dunkel. Bei Dosen über 100 mg/kg treten ebenfalls Nekrosen, und dazu ein Einrollen der Blätter vom Rande her, auf.

Über den Zusammenhang zwischen diesen Kupferschäden und den Transpirationsstörungen kann folgendes ausgesagt werden: Überall dort, wo durch Kupferverbindungen die Transpiration beeinflußt wird, sind auch Schädigungen an den Blättern festzustellen. Darüber hinaus sind oft schon dann Verbrennungen wahrnehmbar, wenn die verabreichte Kupfermenge nicht zur Störung des Wasserhaushaltes ausreicht. Es scheint unwahrscheinlich zu sein, daß ein direkter Zusammenhang zwischen Transpirationsstörung und nekrotischen Schädigungen besteht, denn die Störung des Wasserhaushaltes ist auch dann nur vorübergehender Natur (vgl. Abb. 2 und 3), wenn die äußerlich erkennbaren Schädigungen beträchtlich sind.

III. Diskussion

Sämtliche beschriebenen Versuche überblickend, können wir in ganz knapper Formulierung folgende Ergebnisse als wesentlich hervorheben:

1. Vorübergehende Erniedrigung der Transpiration im Licht und Erhöhung im Dunkeln nach Eintauchen der Blätter in oder Bespritzung mit Kupfersulfatlösung.

2. Keine deutliche Beeinflussung durch schwerlösliche Kupferverbindungen.

3. Aufnahme von Kupfersulfat durch den Stengel bewirkt vorübergehende Übersteigerung der Wasseraufnahme und der Transpiration.

4. Die Stomata von Blättern, die mit Kupfersulfat behandelt wurden, sind im Licht wie im Dunkeln weit geöffnet.

Wie stimmen diese Ergebnisse mit der in der Einleitung erwähnten, von Horsfall und Harrison, 1939 entwickelten Theorie der Stomataverstopfung und Verseifung der Kutikula überein? Zuerst sei erwähnt, daß die Bordeauxbrühe bei den in Tab. 16 aufgeführten Versuchen die Transpiration wohl im gleichen Sinne wie Kupfersulfat, und wie die Bordeauxbrühe in Horsfall und Harrisons Versuchen beeinflußt, daß jedoch diese Beeinflussung nicht statistisch gesichert ist. Aus den Eintauchversuchen mit Kupfersulfat (S. 51) geht hervor, daß für die Erniedrigung der Transpiration im Lichte nicht eine Verstopfung der Stomata verantwortlich sein kann, da die Kupfersulfatlösung vor dem Eintrocknen sorgfältig abgewaschen wurde. Daß trotz weit geöffneter Stomata die Wasserabgabe zurückgeht, muß wohl eher auf eine Vergiftung der Pflanze zurückgeführt werden. Darauf deutet auch der Umstand hin, daß nur das chemisch aktive Kupferion wirksam ist, während schwerlösliche oder komplexe Kupferverbindungen, die wenige Ionen abspalten, die Transpiration nur schwach oder gar nicht stören.

Wie auf Seite 69 gezeigt wurde, stört Kupfersulfat den Öffnungs- und Schließmechanismus, so daß auch im Dunkeln die Spaltöffnungen offenstehen. Die Erhöhung der Transpiration im Dunkeln ist ohne Zweifel zur Hauptsache auf diesen Umstand zurückzuführen. Wie groß die kutikulare Transpiration bei behandelten Pflanzen ist, läßt sich überhaupt nicht feststellen, da auch auf der Blattoberseite Stomata liegen. Es ist somit falsch, die Dunkel-Transpiration behandelter Pflanzen als kutikulare Transpiration zu bezeichnen. Ob die von Horsfall und Harrison postulierte Verseifung der in die Kutikula eingelagerten Substanzen wirklich von der Bedeutung ist, die die Autoren ihr zuschreiben, dürfte zu bezweifeln sein.

Es bleibt nun noch eine Beobachtung, die bei den auf Seite 62 ff. beschriebenen Potetometerversuchen gemacht wurde, zu diskutieren: Das steile Ansteigen der Wasseraufnahme, unmittelbar gefolgt von einer Transpirationssteigerung, bei Pflanzen, die in Kupfersulfatlösung eingestellt werden. Auf dieses Ansteigen folgt dann ein zuerst ebenso ausgeprägtes, später mehr allmählich verlaufendes Absinken der Wasseraufnahme und der Transpiration (Abb. 5 und 6). Im Dunkeln tritt die Steigerung erst nach längerer Zeit ein und die Kurve verläuft flacher als im Lichte (Abb. 7).

Wenden wir uns zunächst der Frage nach der Ursache der Transpirationsstörung zu. Auch andere Pflanzengifte beeinflussen die Transpiration, wie Gäumann und Jaag, 1947 am Beispiel des Lycomarasmins (eines Welketoxins aus *Fusarium lycopersici*, Sacc.) und des Patulins (eines Welketoxins und Antibiotikums aus *Aspergillus clavatus* Desm., sowie aus verschiedenen Penicilliumarten) zeigten. Beim Einstellen von Tomaten-

sprossen in Lösungen von Lycomarasmin tritt unmittelbar eine schockartige Drosselung der Transpiration ein. Darauf folgt als 2. Phase ein abrupter Anstieg mit nachfolgendem steilem Abfall der Wasserabgabe. Die Schockwirkung wird dadurch erklärt, daß das Lycomarasmin sehr schnell in das Plasma der Gewebezellen eindringt und sie schwer schädigt. Als Folge dieser Schädigung — es handelt sich dabei anscheinend um eine Koagulasewirkung — wird aus den Geweben Wasser frei gesetzt, wodurch das plötzliche Ansteigen der Transpiration zustande kommen dürfte. Patulin verursacht weder eine Schockwirkung, noch eine deutliche Übersteigerung der Wasserabgabe. Die Kurve der Transpiration sinkt mehr oder weniger stetig ab. Sie deutet auf eine langsam fortschreitende Schädigung hin. Nach MIESCHER, 1950 besteht diese Schädigung in einer Blockierung der freien Sulfhydrylgruppen.

Die durch Kupfersulfat verursachte Transpirationsstörung entspricht eher dem Patulintypus. Das anfängliche Ansteigen kann als Folge der vermehrten Öffnung der Stomata gedeutet werden, während das nachherige Absinken auf eine Giftwirkung hinweist. Welcher Art diese ist, soll hier nicht diskutiert werden.

Die Kurve der Wasseraufnahme verläuft stets im selben Sinne wie die der Wasserabgabe. Im Falle des Lycomarasmins zeigt sich wieder eine anfängliche Schockwirkung, die von einer vorübergehenden beträchtlichen Übersteigerung gefolgt ist. Es gelang bisher nicht, für diesen Verlauf der Wasseraufnahme eine Erklärung zu finden.

Im Falle des Kupfersulfates beträgt die Zunahme der Wasseraufnahme über den Normalwert hinaus bei belichteten Pflanzen 100—150 %. Die Übersteigerung ist damit noch erheblich größer als die durch Lycomarasmin von gleicher Molarität an Tomaten verursachte. Man ist versucht, die Erklärung entweder auf dem Gebiete des osmotischen Zustandes der Zellen, oder auf jenem des Quellungszustandes der Zellsubstanzen zu suchen.

Es liegen keine Anhaltspunkte dafür vor, daß durch Kupferionen der osmotische Wert des Zellsaftes und damit die Saugkraft der Zellen plötzlich erhöht werde. Dagegen ist bekannt, daß der Quellungszustand von Pektinen und anderen hochmolekularen Polysacchariden durch chemische Zusätze sehr wesentlich verändert werden kann (DEUEL und HUBER, 1949). Sowohl Veresterung wie Salzbildung bewirken, daß die geknäuelten Fadenmoleküle sich strecken. Durch Bildung des Kupfersalzes tritt zudem eine vermehrte Dissoziation und damit verbunden eine stärkere negative Aufladung der Pektinstoffe ein. Durch die elektrische Aufladung, sowie durch die Streckung der Fadenmoleküle wird eine vermehrte Hydratation und damit eine vermehrte Quellung verursacht. (Diese Ausführungen verdanke ich Herrn Dr. G. HUBER vom Agrikulturchemischen Institut der ETH.)

Der quellenden Wirkung auf Polysaccharide steht eine Entquellung der Polypeptide durch das zuweilen sogar als Gerbmittel verwendete Kupfer entgegen. Doch dürfte, im gesamten gesehen, anfänglich die Quellung überwiegen, da das Kupfer zuerst mit den in den Zellwänden eingelagerten

Pektinstoffen in Berührung kommt und dort zurückgehalten wird, bevor es, bei weiterem Nachschub, ins Plasma eindringt.

Im Dunkeln verlaufen die Kurven gleichsinnig, jedoch ist die Steigerung der Wasseraufnahme gegenüber jener der Abgabe nicht übersetzt. Ferner sind die Maxima beider Kurven um etwa 15 Stunden verzögert. Die Ursache für diesen etwas andersartigen Verlauf kann wohl darin gesucht werden, daß im Dunkeln die Aufnahme und der Umsatz von Wasser, sowie verschiedene andere pflanzliche Lebensfunktionen erheblich verlangsamt ablaufen.

IV. Zusammenfassung

Von Bohnenpflanzen, die mit mehreren Kupferverbindungen und auf verschiedene Weise behandelt worden waren, wurde nach verschiedenen Methoden die Transpiration im Lichte und im Dunkeln bestimmt. Die Ergebnisse sind die folgenden:

1. Wenn die Blätter junger Bohnenpflanzen mit Lösungen von Kupfersulfat + Netzmittel bespritzt werden, wird bei Konzentrationen von 0,06 % (= $2{,}4 \cdot 10^{-3}$ Mol/L) und mehr, die Gesamttranspiration erniedrigt und die Transpiration im Dunkeln erhöht. Diese Störung des Wasserhaushaltes ist vorübergehender Natur.

2. Werden die Blätter in reine Kupfersulfatlösungen während 30 Minuten eingetaucht, ändert sich die Transpiration im selben Sinne wie nach Bespritzung. Die Beeinflussung ist allein auf die Kupferionen zurückzuführen.

3. Durch 90-minutiges Eintauchen der Blätter in 0,5 %ige Aufschwemmungen von Kupferoxydul, Cuprioxyd oder Kupferkarbonat wird die Transpiration nicht deutlich beeinflußt.

4. Von drei geprüften Handelspräparaten zeigt nur eines eine vorübergehende deutliche Erhöhung der Transpiration im Dunkeln.

5. Versuche mit der Kobaltchlorürmethode geben gleichsinnige Ergebnisse, wie die Transpirationsbestimmungen durch Wägung.

6. Werden abgeschnittene Bohnenpflanzen in eine Kupfersulfatlösung gestellt, steigen sowohl Wasseraufnahme als auch Wasserabgabe beträchtlich an, um später auf ein unter dem Normalen liegendes Maß abzusinken. Bei Belichtung tritt dieser Vorgang schneller und ausgeprägter ein als im Dunkeln.

7. Die Stomata von Blättern, die mit Kupfersulfat behandelt wurden, sind sowohl bei Belichtung als auch im Dunkeln sehr stark geöffnet.

8. Es bestehen Anhaltspunkte für die Annahme, daß die durch Kupfersulfat bewirkte Störung des Wasserhaushaltes mit einer Veränderung des Quellungszustandes gewisser Membranstoffe, sowie mit einer Giftwirkung im Zusammenhang stehen.

9. Alle Ergebnisse der in dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen beziehen sich auf Buschbohnen der Sorte „Genfer Markt". Wie die Verhältnisse bei anderen Sorten und bei anderen Pflanzenarten liegen, müßte für jeden Fall experimentell festgestellt werden.

Es ist dem Verfasser ein Bedürfnis, seinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. E. GÄUMANN für sein Interesse an dieser Arbeit sowie für mannigfache wertvolle Anregungen herzlich zu danken.

Literaturverzeichnis

ADERHOLD, R., 1903. Der heutige Stand unserer Kenntnisse über die Wirkung der Bordeauxbrühe als Pflanzenschutzmittel. Jahresbericht d. Ver. d. Vertr. d. angew. Bot. **1**, 12—36.

DAXER, H., 1939. Versuche über die Wirkung des Kupfers auf Blätter. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten **49**, 225—251.

DEUEL, H. und HUBER, G., 1949. Über die Quellung von vernetzten Pektinstoffen verschiedenen Veresterungsgrades. Helv. Chim. Acta **33**, 10—13.

DUGGAR, B. M. and COOLY J. S., 1914. The effect of surface films and dusts on the rate of transpiration. Ann. of Miss. Bot. Gardens **1**, 1—22.

EWERT, 1905. Der wechselseitige Einfluß des Lichtes und der Kupferkalkbrühe auf den Stoffwechsel der Pflanzen. Landw. Jahrbücher **34**, 233—310.

GASSNER und GOEZE, 1932. Über die Wirkung einiger Pflanzenschutzmittel auf das Assimilationsverhalten von Blättern. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. **50**, 517—528.

GASSNER, G. und GRIMM, H., 1952. Über die Wirkung von Kupferkalkspritzungen auf Ertrag und Stärkegehalt der Kartoffeln. Angew. Bot., 60—68.

GÄUMANN, E. und JAAG, O., 1936. Untersuchungen über die pflanzliche Transpiration. Ber. Schw. Bot. Ges. **45**, 411—518.

— —, — — 1939. Der Einfluß des Windes auf die pflanzliche Transpiration I u. II. Ber. Schw. Bot. Ges. **49**, 178—238; 555—626.

— —, — — 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I, II, III. Ber. Schw. Bot. Ges. **57**, 5—36; 132—148; 227—241.

HORSFALL, J. G., 1945. Fungicides and their action. Chronica Botanica Company. 239 pp.

— — and HARRISON A. L., 1939. Effect of Bordeaux mixture and its various elements on transpiration. Journ. Agr. Res. **58**, 423—443.

KILLING, C., 1919. Zur Wirkung von Peronosporabekämpfungsmitteln. Wein u. Rebe **1**, 582.

LINDER, A., 1945. Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. Verl. Birkhäuser, Basel 150 pp.

MIESCHER, G., 1950. Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen. Phytopath. Zeitschr. **16**, 369—397.

MILLER, E. C., 1938. Plant physiology. Mc. Graw — Hill Book Co., Inc. 1201 pp.

RUMM, C., 1893. Über die Wirkung der Kupferpräparate bei Bekämpfung der sogenannten Blattfallkrankheit der Weinrebe. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **11**, 79—93.

— —, 1893. Zur Frage nach der Wirkung der Kupferkalksalze bei Bekämpfung der Peronospora viticola. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **11**, 445—452.

SOUTHWICK, F. W. and CHILDERS, N. F., 1941. Influence of Bordeaux mixture and its component parts on transpiration and apparent photosynthesis of apple leaves. Plant physiology **16**, 721—754.

STAHL, E., 1894. Einige Versuche über Transpiration und Assimilation. Bot. Ztg. **52**, 117—146.

WORTMANN, J., 1919. Untersuchungen über Peronospora viticola. Wein u. Rebe **1**, 99.

Zur Frage der Wanderung europäischer Rübenvirosen

Von

L. - A. Schlösser, Einbeck

Seit nunmehr fast zwei Jahrzehnten steht der europäische Zuckerrübenbau unter dem Eindruck des Auftretens und des immer weiteren Vordringens einer neuen und sehr gefährlichen Gruppe von Viruskrankheiten. Sie treten um die dreißiger Jahre in England auf, werden in Nordfrankreich und Belgien festgestellt und erstmalig in Holland von Quanjer als Viruskrankheit sicher erkannt, während man vorher oft geneigt war, die klaren Symptome auf Trockenheitsschäden, Anbau- oder Düngungsfehler zurückzuführen. In den letzten Jahren vor dem letzten Kriege war diese Seuche erstmalig in den westdeutschen Anbaugebieten des Rheinlandes aufgetreten, ohne jedoch dort in ihrer Bedeutung als gefährliche Virose erkannt zu werden. In den Kriegsjahren trat die Krankheit in wechselnder Stärke im Rheinland auf, um dann in den Nachkriegsjahren regelmäßig in Erscheinung zu treten, wobei das Auftreten in den Jahren 1947 und 1949 besonders schwer und für den Zuckerrübenbau schädigend war. In diesen Jahren wurde auch das weite westfälische Futterrübengebiet infiziert. 1948 wurden zwischen Minden und Hannover erste stärkere Infektionen in Futterrübensamenbeständen gefunden. In den folgenden Jahren wurden dann auch fast überall in Niedersachsen und auch in einzelnen Gebieten Mitteldeutschlands schwächere Herdinfektionen der Viruskrankheit festgestellt. Doch trat bisher in keinem Falle eine nur annähernd so schwere Schädigung in Zuckerrübenbeständen auf, als dies im Rheinland und in Westeuropa der Fall ist. Diese Tatsache dürfte auf den Umstand zurückzuführen sein, daß etwa ostwärts der Linie Hamm-Emden die durchschnittlichen Überwinterungsmöglichkeiten der als Überträger dienenden grünen und schwarzen Läuse sehr viel ungünstiger sind als westlich dieser Linie. In den Gebieten östlich dieser Linie sinkt im Durchschnitt der Jahre im Winter, wenigstens für kürzere Zeit, die Temperatur unter -11^{0} C, wodurch die Imagines der Läuse praktisch vernichtet werden. In diesem Gebiete müssen also die gefährlichen Läusepopulationen in jedem Jahre wieder neu aus Eiern bis zu der Stärke aufgebaut werden, daß es zu einer epidemischen Ausbreitung der durch diese Läuse übertragenen Viren kommen kann. In Westdeutschland und den westeuropäischen Ländern kann dagegen der Aufbau der Läusepopulationen schon früh und rasch aus den überwinterten Läusen erfolgen, wodurch die gefährlichen Frühinfektionen der jungen Rübenpflanzen möglich sind, aber auch die Zahl der Läusegenerationen im Laufe des Sommers erhöht werden kann. Weitgehend virusfrei ist der Küstenstreifen der Nordsee vom niederländischen Groningen über Friesland-Oldenburg-Nordhannover-Schleswig-Holstein geblieben, mit der Ausnahme eines Viruseinbruchs in Groningen-

Emsland im Jahre 1951, was mit besonderen Witterungsbedingungen zusammenhängt. Darüber wird an anderer Stelle berichtet werden.

Die Virusepidemie drang weiter nach S- und SW-Deutschland vor. Starke Erkrankungen zeigte die Pfalz, und 1951 waren auch stärkere Schäden in dem bisher virusfreien Unterfranken festzustellen. Erste herdweise Infektionen in Niederbayern und Oberösterreich zeigten den weiteren Ausbreitungsweg der Virosen. Das schweizer Rübenanbaugebiet im Bereich der Zuckerfabrik Aarberg, 1950 noch virusfrei, zeigte 1951 erhebliche Schäden. Im Oberlaufgebiet des Po, etwa bis Piazenca, sind 1951 die ersten Infektionsherde festgestellt, ohne gefährliche Ausmaße anzunehmen. Ähnlich liegen die Verhältnisse in Futterrübenschlägen der Steiermark und Kärntens sowie in den westlichen Gebieten Jugoslawiens, also Kroatien und Slowenien, im Jahre 1951. Im Banat und in Altserbien sind dagegen 1951 verschiedentlich schon sehr starke Infektionen festzustellen, wobei zu bemerken ist, daß sich hier Virusformen finden lassen, die mit den aus West- nach Mitteleuropa vordringenden Virusformen nichts zu tun haben. Die Türkei, bisher praktisch virusfrei, zeigt 1952 in zwei anatolischen Anbaugebieten — um Eskishehir und bei Turhal — erstmalig sehr erhebliche Virusschäden in Samenrübenbeständen. In dem noch jungen syrischen Zuckerrübenanbaugebiet wurde nur in einem Falle eine schwache Infektion gefunden. Bei Teheran sind im Sommer 1952 im Zuckerrübenanbau erhebliche Mischinfektionen zu beobachten. Aber auch in Spanien wurde von KNAPP 1951 in einem bisher virusfreien Gebiet — in Kastilien — erstmalig erheblicher Virusbefall festgestellt, der sich 1952 weiter verstärkte.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß im Laufe von rund zwei Jahrzehnten die gefährliche Seuche, von England und Nordfrankreich ausgehend, sich in erster Linie nach Osten ausbreitend, weite Gebiete des europäischen Zuckerrübenbaues vollkommen erobert hat und gerade nach den Beobachtungen der letzten beiden Jahre der Eindruck ergibt, als ob diese Ostwanderung noch nicht zu einem Abschluß gekommen ist. Der Verfasser ist sich klar darüber, daß diese Angaben über die Virusverbreitung, die mit Ausnahme des Befundes von KNAPP in Spanien auf eigenen Feldbeobachtungen und anschließender kritischer und auf breiter Grundlage durchgeführten biologischen Analysen im Gewächshaus beruhen, nur ein grobes Netz von einzelnen Punkten darstellt und in vieler Hinsicht der zeitlichen und örtlichen Ergänzung bedarf. Da aber alle Befunde in den verschiedenen Ländern mit den dortigen Fachleuten diskutiert wurden, sollen sie für die hier zu behandelnden Fragen als repräsentativ angesehen werden.

Notwendig ist es, den absichtlich etwas vage gefaßten Begriff der Rübenvirosen genauer zu erläutern. Es handelt sich bei dem ganzen Komplex um zwei Gruppen von Viruskrankheiten, die jede wieder in einer ganzen Anzahl von in ihren äußeren Symptomen und in ihrer physiologischen Wirksamkeit auf den Lebensablauf des Wirtes unterschiedenen Formen auftreten. Dies war, etwa in Parallele, mit anderen schon genauer bekannten Viren des Tabaks und der Kartoffel als beinahe sicher zu erwarten. Bei den beiden Gruppen handelt es sich um das Rübenmosaik und um die Rübengelbsucht. Diese beiden Krankheitsgruppen lassen sich bei einiger Übung in ihren ver-

schiedenen Formen ohne Schwierigkeit auf dem Felde ansprechen, sie kommen allein, meist aber in Mischinfektionen vor. Bis zur Erarbeitung einer besseren Unterscheidungsmöglichkeit auf biochemischer und elektronenmikroskopischer Grundlage wird hier folgendermaßen unterschieden:

Rübenmosaik: Erstes Auftreten der morphologischen Symptome an den jungen Innenblättern, je nach den Außenbedingungen zwischen dem sechsten und zehnten Tage nach erfolgter Infektion.

Rübengelbsucht: Erstes Auftreten der Symptome an den vollentwickelten bis abreifenden Blättern, nicht vor dem zehnten Tage nach der Infektion.

Beim Rübenmosaik zeigen die jüngsten Blätter, je nach der Mosaikform, nur sehr kleine helle Flecken des Chlorophylldefektes, größere gleichmäßige oder ungleichmäßige helle Flecken sowie große chlorophyllfreie Inseln mit beginnender Blattverkrüppelung schon in den frühesten Stadien der Entwicklung.

Bei der Gelbsucht sind je nach der Gelbsuchtform Art und Zeitpunkt des Auftretens der Symptome sehr unterschiedlich. Es kann sich um „Ringflecken", „Fettflecken", „Nadelstiche" auf den vollentwickelten Blättern handeln. Aber in allen diesen „Sonderformen" wie bei der „normalen" Gelbsucht werden die Blätter bald dicker, nehmen eine goldgelbe Farbe an, um dann unter verschiedenen Erscheinungen ziemlich schnell abzusterben.

Erschwerend ist der Umstand, daß praktisch in dem infizierten Rübenfelde Rübenmosaik und Gelbsucht in ihren verschiedensten Formen und in unterschiedlichem Grade als Mischinfektionen auftreten, was im Zusammenspiel mit dem Zustand der Wirtspflanze eine fast unübersehbare Folge verschiedener Phaenotypen ergibt. Hier Klarheit zu schaffen, ist nur im Läuseisolierhaus auf dem Wege der biologischen Analyse mit Hilfe virusfreier Läusestämme möglich. Diese Arbeit ist für die Virusmischungen der oben angeführten Fundorte weitgehend durchgeführt und wird in diesem Sommer zum vorläufigen Abschluß gebracht.

Betrachtet man das immer stärkere Vordringen dieser Rübenvirosen, so drängen sich drei Fragen auf:

1. Handelt es sich wirklich um eine neue Krankheitsgruppe oder hat nur ein geschärfterer Blick an sich Altbekanntes neu und vielleicht etwas genauer gesehen?
2. Wie war ein so schnelles Vordringen möglich?
3. Woher hat diese gefährliche Krankheitsgruppe ihren Ursprung genommen?

Die erste Frage muß mit vollem Recht gestellt werden, denn es ist etwas Erstaunliches, daß eine solche Seuche plötzlich, wie ein Blitz aus heiterem Himmel immer weitere Anbaugebiete der ertragreichsten Hackfrucht der gemäßigten Breiten überfällt und schweren Schaden anrichtet. Hierzu ist zu sagen, daß sicher die allgemeine Entwicklung des Virusproblems, die großen Ergebnisse der theoretischen Virusforschung, speziell an Tabakvirosen, und die praktisch bedeutsame Erforschung der Kartoffelvirosen, den Blick zur Erkennung viröser Rübenkrankheiten wesentlich geschärft haben. Auch darf, ich erwähne hier nur mündliche Berichte des sehr kritischen Lü-

DECKE, wohl mit Sicherheit angenommen werden, daß auch in Mitteleuropa vor dieser großen Welle der Rübenvirosen in einzelnen Fällen und von einzelnen Formen der einen oder anderen Virusgruppe örtliche Infektionsherde beobachtet wurden, die aber natürlich nicht in ihrer Natur erkannt wurden, keinen wesentlichen Schaden anrichteten und im folgenden Jahre unter anderen Bedingungen, d. h. Bedingungen zur Ausbreitung der übertragenden Läuse, verschwanden. Es muß aber als vollkommen ausgeschlossen angesehen werden, daß auch ohne Kenntnis des Viruscharakters ein solch sich nun laufend wiederholendes Auftreten einer so schweren Schaden erregenden Pflanzenkrankheit den kritischen Augen der Phytopathologen, vor allem aber den Praktikern der Landwirtschaft und Zuckertechnik entgangen sein sollte. Denn die Ertragsminderung, die Vernichtung des Blattapparates, die erhöhte Unreinheit der Säfte im Fabrikationsprozeß als Folge des erhöhten Gehaltes an „schädlichem Stickstoff", alle diese Erscheinungen in ihrer Gewichtigkeit und ihrer Komplexität konnten einfach nicht übersehen werden. Und für diese Vorstellung spricht, daß ja die Krankheit in jedem Lande, das sie neu eroberte, gewissermaßen erst neu entdeckt wurde, daß man in jedem Falle, ob in den Niederlanden, in Belgien, in Frankreich und in Deutschland — England nicht zu vergessen —, die gleichen Symptome, die gleichen Arten der Schädigung feststellte. Betrachtet man alle diese Erscheinungen zusammenfassend, so kommt man zu dem Ergebnis, daß es sich hier grundsätzlich um den Fall des plötzlich epidemischen Auftretens und Fortschreitens einer neuen und gefährlichen Gruppe von Viruskrankheiten handelt, die in den Mischinfektionen ihre Wirkung oft noch steigern. Man kann diese Entwicklung vergleichen mit dem vernichtenden Auftreten von Mosaikkrankheiten, die den Zuckerrohrbau bis zum Auffinden resistenter Formen fast zum Erliegen zu bringen drohten, mit den schlimmen Virosen des Kakao in Kamerun und an der Goldküste und nicht zuletzt mit den Kartoffelvirosen in den alten Kartoffelbauländern.

Kommt man zu der Auffassung, daß diese Viruserkrankungen der Zuckerrüben in ihrer Form und Stärke etwas Neues darstellen, so erfährt die zweite Frage nach der Art des verhältnismäßig schnellen Vordringens der gefährlichen Seuche eine klare Antwort, wenn man die Untersuchungen des Niederländers RIETBERG, des Engländers HULL, vor allem aber des deutschen Entomologen STEUDEL über die Biologie, Generationsfolge und Überwinterungsmöglichkeit der virusübertragenden Läuse in den verschiedenen Befallsgebieten heranzieht.

Betrachtet man das allmähliche Vordringen dieser Krankheit, so fällt auf, daß es sich um ein Fortschreiten von England und Nordfrankreich in überwiegend östlicher und südöstlicher Richtung handelt. Nur in dem einzelnen Falle von Mittelspanien muß ein mehr südwestlicher Wanderungsweg angenommen werden. Hatte die Virusepidemie einmal in einem Lande in den Zucker- und Futterrübenbeständen fest Fuß gefaßt, war es also zu starken Infektionen der Feldbestände und der viruserhaltenden Unkräuter gekommen und hatten sich ferner für die virustragenden Läuse an Kohl sowie Winterspinat oder in Futterrübenmieten Überwinterungsmöglichkeiten gefunden und

trugen nicht genügend kontrollierte Zucker- und Futterrübenstecklinge und Unkräuter dazu bei, das Virus von einer Vegetationszeit in die andere zu übertragen, dann war im folgenden Jahre fast immer die Möglichkeit gegeben, die Epidemie weiter ostwärts zu verschleppen. Denn im Laufe des späten Frühjahrs und Sommers bis in den Herbst hinein, also während der ganzen Periode der Entwicklung der aufeinanderfolgenden Läusegenerationen, sind Wetterperioden mit überwiegend westlichen, südwestlichen oder nordwestlichen Winden öfter gegeben. Diese Winde, im Bereich kleinerer Klimaräume oft noch abgelenkt, tragen laufend größere Mengen virustragender Läuse als „unfreiwillige Fallschirmtruppen" in überwiegend ostwärtige Richtung. So machen die in verschiedenen Ländern durchgeführten epidemiologischen Untersuchungen an den wichtigsten der virusübertragenden Blattläuse Wanderungsgeschwindigkeit und Wanderungsweg der Virusepidemie voll verständlich. Erst dort wird dieser Vormarsch nach dem Osten in seiner vollen Kraft gebrochen werden, wo sich der Vermehrungsquote der Läuse, ihrer Generationenfolge sowie der Überwinterungsmöglichkeit der Imagines der Überträger sowie auch der Viren selbst klimatische oder andersartige Hindernisse im Durchschnitt der Jahre gegenüberstellen. Aber auch in einem solchen Grenzgebiet ist immer mit einem Hineinbranden einer Infektionswelle in dem einen oder anderen Jahre zu rechnen. Chronische Dauergefährdung ist hier allerdings nicht zu erwarten, im Gegensatz zu den besonders gefährdeten Gebieten West- und Mitteleuropas.

Macht man sich die Gedanken der hier entwickelten Anschauungen über das Fortschreiten der Virusinfektion zu eigen, so ergeben sich gewisse Hinweise, wo der Ursprungsherd dieser Seuche zu suchen ist. Alle Hinweise deuten auf England. Es erhebt sich nur die Frage, ob Tatsachen bekannt sind, die diese Vorstellung unterbauen können, und ob sie zu einer einheitlichen Schau des Gesamtproblems führen können.

Während eines Besuches in England fiel dem Verfasser auf, daß an zwei Standorten in genetisch sehr bunten Populationen der am Strande und im Brackwassergebiet wachsenden *Beta maritima* in größerer Zahl Pflanzen vorkamen, die sehr kräftige, hohe und dunkelgrüne Sprosse hatten mit sehr reichlichen Blüten und bestem Samenansatz. Bei genauerer Betrachtung konnte man jedoch, besonders an den abreifenden unteren Blättern feststellen, daß sich Symptome schwerster Virusmischinfektionen zeigten. Schon nach dem Augenschein war zu erkennen, daß verschiedene Formen aus der Gelbsucht- und der Mosaikgruppe vorhanden waren. Neben diesen schwer infizierten, aber gesund erscheinenden und kräftig wachsenden Samenstauden der *B. maritima* waren aber auch sehr kümmerlich wachsende Pflanzen zu finden, die bei schwersten, die ganze Pflanze erfassenden Virussymptomen nur wenige Blüten zeigten und schlechten Ansatz nur mit kleinen Knäulen aufwiesen. Diese Pflanzen machten den gleichen Eindruck wie Samenträger von Hochzuchtzuckerrüben, die zeitig und schwer im Stecklingsjahr mischinfiziert wurden. Die erste Gruppe von Pflanzen dagegen machte den Eindruck, als ob sie Träger irgendwelcher Toleranz- oder Resistenzgene seien, da sie trotz schwerster Infektion eine gute Lebensleistung vollbringen.

Um eine biologische Analyse der in diesen toleranten Wildrüben vorhandenen Viren zu ermöglichen und das Problem der Toleranz genauer studieren zu können, wurden dann im Herbst des gleichen Jahres aus Wildrübenbeständen am Nordufer der Themsemündung — für den Hinweis bin ich Herrn OSWALD ROSE von der British Sugar Corporation zu besonderem Dank verpflichtet — von stud. chem. E. SCHLÖSSER Aufsammlungen von Pflanzen vorgenommen, die bei bestem Wuchs und für den Laien gesundem Habitus schwerste Virussymptome zeigten. Zweihundert solcher Pflanzen wurden nach Einbeck gesandt und eine große Anzahl von ihnen auf ihren Virusbestand hin untersucht. Ohne hier auf Einzelheiten einzugehen, ist zu sagen, daß alle Virusformen, sowohl aus der Gelbsucht- wie aus der Mosaikgruppe, die einzeln oder aus Mischinfektionen aus irgendwelchen Rüben des gesamten europäischen und außereuropäischen Krankheitsgebietes bisher isoliert und erfaßt werden konnten, hier oft auf einzelnen Pflanzen in einer unerwarteten Vollzähligkeit vorhanden waren. Und darüber hinaus konnten einzelne Formen gefunden werden, die uns bisher von noch keinem anderen Standort bekanntgeworden waren. Diese Tatsache erscheint von besonderer Bedeutung.

Das Vorhandensein von mehr oder minder gegen schwerste Mischinfektionen toleranten *Beta maritima*-Pflanzen, die in größerer Zahl neben wenigen ebenso schwer infizierten, aber weniger oder nicht toleranten Wildrübenpflanzen stehen, zeigt, daß wir hier Einblick in einen im vollen Ablauf befindlichen, sehr eigenartigen natürlichen biologischen Auslesevorgang nehmen können. Dabei haben sich in größerer Zahl Pflanzen herausgebildet, die nicht nur gegen einzelne der sehr unterschiedlich auf ihren Wirt einwirkenden Virusformen widerstandsfähig sind, sondern diese Eigenschaft, die als eine echte Toleranz anzusprechen ist, gegen die verschiedensten Kombinationen der gefährlichsten Viren besitzen. Gerade diese Toleranz gegen die verschiedenen Mischinfektionen ist eine Eigenschaft, die nur auf einem langen Wege der natürlichen Auslese durch Kombination einer ganzen Anzahl von wichtigen Toleranzgenen erworben werden kann. Jede dieser Mischinfektionen, auf Kulturrüben übertragen, führt zu schwersten Schädigungen; in manchen Fällen, besonders bei früher Infektion, zum Absterben der Pflanze.

Dieser natürliche Auslesevorgang wird verlangsamt, aber in seiner Sicherheit erhöht durch die Tatsache, daß die meisten dieser Wildrüben ausdauernd sind. Ist also einmal eine Kombination wichtiger Toleranzgene entstanden, so wird diese Pflanze Jahr für Jahr eine sehr große Samenmenge erzeugen, wobei die Wahrscheinlichkeit, daß von diesen Samen ein erheblicher Prozentsatz wieder irgendwelche günstigen Kombinationen solcher Gene hat, groß ist. Andererseits haben auch die schwach oder nicht toleranten Pflanzen die Möglichkeit eines ausdauernden, wenn auch nur sehr kümmerlichen Wachstums und können längere Jahre Samen, wenn auch nur in einer sehr geringen Menge geben. Auf diesem Wege muß es im Laufe der Zeit zu einer allmählichen Verschiebung des Zahlenverhältnisses immer mehr zugunsten der höher toleranten Formen führen. Die Entstehung von hochgradig gegen die verschiedensten Mischinfektionen toleranten Formen ist aus genetischen Gründen nur in langen

Generationenfolgen denkbar, was zwangsläufig zu der Vorstellung führen muß, daß Jahrtausende erforderlich waren, um den jetzt vorhandenen Zustand zu erreichen.

Wie stehen nun diese Beobachtungen und Überlegungen im Zusammenhang mit der Frage nach dem Entstehungszentrum der Rübenvirosen? Hier ergeben sich sehr klare Beziehungen, wenn man überlegt, daß erstens der Anbau der Zuckerrüben in England noch sehr jungen Datums ist und eigentlich erst Mitte der zwanziger Jahre besonders in SO-England größere Ausdehnung gefunden hat, also in jenem Gebiete, an dessen Küsten die virustoleranten Wildrüben stehen, und daß zweitens in England mitteleuropäische Zuckerrüben zum Anbau gekommen sind, die, soweit man ihre Abstammungsgeschichte verfolgen kann, auf den Mittelmeerraum des Altertums zurückweisen. Diese in erster Linie in Mitteleuropa auf schmaler genetischer Basis aus „weißen Futterrüben" im Laufe der letzten 200 Jahre entwickelten Kultursorten der Zuckerrüben haben praktisch kaum Toleranzgene und sind hochgradig anfällig gegen diese Viren. Wildrüben aus dem mediterranen Raum sind, auch in *Beta maritima* systematisch erfaßt, ebenso wie die an der italienischen Küste vorhandenen höher entwickelten Formen („Halbwildrüben") — soweit bekannt — besonders virusanfällig.

Die in den hochgradigtoleranten Wildrüben der englischen Südküste gehorteten verschiedenen Formen der Rübenviren fanden nun, von Läusen übertragen, auf den weiten Beständen der englischen Zuckerrüben im küstennahen Hinterland ab Mitte der zwanziger Jahre den allerbesten Nährboden. Es bedurfte nur weniger Jahre, um auch eine weitgehende Verseuchung der englischen Zuckerrübenbestände herbeizuführen, trotz des für die Läuse wenig günstigen feuchten Klimas in der Küstenzone Englands. Dabei darf bemerkt werden, daß in einigen Gegenden Südostenglands auch im Frühsommer regelmäßige Trockenperioden vorkommen, die die Massenvermehrung der Läuse wesentlich begünstigen können. Berichte aus der ersten Zeit des englischen Zuckerrübenanbaues sprechen verschiedentlich von „Düngungsschäden, Trokkenschäden u. a. m." bei Zuckerrüben, und man geht wohl nicht fehl, daß es sich hier in den meisten Fällen um erste Virusschäden handelte, die bei dem damaligen Stand der Forschung natürlich nicht in ihrer Natur erkannt werden konnten.

Nun schließt sich der Ring. Wenn man auch annehmen kann, daß ab und an von den toleranten virosen Wildrüben einige geflügelte Läuse durch den Wind im Sommer auf das Festland verweht wurden, so war eine Masseninfektion erst möglich, wenn das Virus auf den so empfindlichen Kulturrüben die Voraussetzung zu einer Massenvermehrung erfahren hatte, die nur auf den großen Rübenflächen möglich war, und wo außerdem die Läuse ganz andere Vermehrungs- und Verbreitungsmöglichkeiten fanden als in dem für sie so ungünstigen, kühlen und feuchten Küstenstreifen. Nun brauchte, was wohl im Laufe jedes Sommers ein- oder mehrmals gegeben war, die Zeit des Massenauftretens von virusübertragenden geflügelten Läusen mit einem günstigen West-, Nordwest- oder Südwest-Wind zusammenzufallen, um in großer Zahl Virusträger in die ausgedehnten Zuckerrübenanbaugebiete Nordfrankreichs,

Belgiens und der Niederlande herüberzutragen. Das Virus faßt in der verschiedensten Weise dort Fuß und breitet sich dann Jahr für Jahr weiter nach dem Osten aus.

Die verschiedenen Virusformen beider Gruppen, von unterschiedlicher Persistenz und ungleicher Fähigkeit der Verbreitung, erobern sich die Bestände der Zucker- und auch Futterrüben, in denen Toleranz- und Resistenzfaktoren nur weit verstreut und in geringer Zahl vorhanden sind, so daß sich allgemein das Bild einer sehr starken Anfälligkeit und Störung durch den Virusbefall ergibt. Es bedarf langdauernder und auf breitester Basis durchgeführter genetischer Untersuchungen, um aus vielen Tausenden von Hochzuchtfamilien der Zuckerrüben die fraglichen Gene zu isolieren und etwa so zu kombinieren, wie der lange Prozeß natürlicher Auslese es bei den virustoleranten Wildrüben an der englischen Küste vollbracht hat.

Die Frage des Einbruchs der Virengruppen von den englischen toleranten Wildrüben auf die nichttoleranten Zucker- und Futterrüben mitteleuropäischen Ursprungs dürfte somit geklärt sein. Offen bleibt die wohl kaum lösbare Frage, wie nach der letzten Eiszeit die Rübenviren in so bunter Zahl die Wildrüben eroberten und jenen großen Auslesevorgang einleiteten, ob die Viren von anderen Wirten auf die Rüben übersiedelten und erst auf ihnen ihre Formenmannigfaltigkeit entwickelten. Damit sind wir an der Frage der spezifischen oder unspezifischen Virusentstehung angelangt, ein Problemkomplex, dessen Lösung noch völlig offen erscheint.

Literaturverzeichnis

1. Bjorling, K., 1947. Observations concerning virus yellows of sugar beet in Sweden 1946 and 1947. Notice I. I. R. B. Nr. 15.
2. Decoux, L., 1931. La Jaunisse de la betterave. La Betterave Nr. 550.
3. — —, 1937. Dégats de la Jaunisse de la betterave en 1936. Public. I. B. A. B., p. 108.
4. Ernould, L., 1950. Les possibilités de lutte contre la Jaunisse. Comm. VIIIme Congrès Int. des Industries Agric., Bruxelles.
5. Heiling, A. und Steudel, W., 1950. Die Vergilbungskrankheit der Rübe. Flg. Biolog. Zentralanstalt Braunschweig, 1.
6. Hull, R., 1947. Some sugar beet disease problems in great Britain with especial reference to virus yellows. C. R. Xme Ass. de l'I. I. R. B., Bruxelles.
7. — —, 1951. Report on virus yellows in Europe. C. R. XIVme Congrès de l'I. I. R. B., Bruxelles.
8. Quanjer, H. M., 1934. Enkele kenmerken der „Vergelings" ziekte van suikeren voederbieten ter onderscheiding van „Zwarte houtvaten" ziekte. Tijdschr. over Plantenziekten, 40, oct 1934.
9. — —, 1936. De vergelingsziekte en de mozaiekziekte van de suiker en voederbiet. Tijdschr. Pl. Ziekt. **42**, p. 48.
10. Schlösser, L.-A., 1951. Infektionszeitpunkt und Ertragsminderung bei gelbsuchtinfizierten Beta-Rüben. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes **3**, S. 54—56.
11. — —, 1951. Viröse Rübengelbsucht an Samenrüben. 1. Die Bedeutung des Infektionszeitpunktes für Samenertrag und Samengüte. Phytopath. Zeitschr. **18**, S. 114 bis 120.
12. Steudel, W., 1949. Über Auftreten und Ausbreitung der virösen Rübenvergilbung im Elsdorfer Versuchsfeld und ihre Beziehungen zum Massenwechsel der Überträger in zwei Extremjahren. Nachr. Bl. dtsch. Pfl. Sch. Dienst Braunschweig **1**, S. 166.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut), Institut für Bastfaserforschung in Niedermarsberg (Westf.)
Direktor: Prof. Dr. E. Schilling

Das Verhalten resistenter und anfälliger Leinsorten gegenüber *Colletotrichum lini* Manns et Bolley

Von
H. Hahn

Mit 9 Abbildungen

Colletotrichum lini wurde von Pethybridge und Westerdijk als Erreger der Anthraknose des Leins festgestellt. E. Schilling (1922) bestätigte diese Befunde für Deutschland und trug wesentlich zur Klärung der systematischen Stellung des Pilzes bei. Die Bedingungen der künstlichen Kultur des Erregers wurden von Krüger (1943) eingehend untersucht. Eglitis (1947) gelang es, aus dem Weltsortiment von *Linum usitatissimum* am Kaiser-Wilhelm-Institut für Bastfaserforschung in Mährisch-Schönberg gegen *Colletotrichum lini* resistente Flachsstämme zu isolieren.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über den Verlauf der Infektion bei den verschiedenen Leinkrankheiten wurde zunächst das Verhalten resistenter und anfälliger Leinsippen bei Befall durch *Colletotrichum lini* geprüft.

Die Infektion wurde an Keimpflanzen durchgeführt. Die Keimlinge wurden infiziert, sobald die Keimblätter voll entfaltet, jedoch noch keine Primärblätter entwickelt waren. Je nach den Bedingungen im Gewächshaus hatten die Pflanzen dieses Stadium fünf bis acht Tage nach der Aussaat erreicht. Zur Infektion wurden Konidienaufschwemmungen des Pilzes verwendet, die von sieben bis acht Tage alten Kulturen auf Möhrensaft-Agar gewonnen worden waren. Die mit der Suspension besprühten Pflanzen wurden dann in ein Infektionsgewächshaus mit dampfgesättigter Atmosphäre und einer konstanten Temperatur von 22 ° C gebracht.

Die ersten Untersuchungen erfolgten 24 Stunden nach der Infektion. Hierbei wurde die Epidermis der zu untersuchenden Organe abgezogen und ohne Vorbehandlung auf einen Objektträger in Anilinblauessigsäurelösung nach Noll (1943) gelegt und nach wenigen Minuten mit einem Deckglas

zugedeckt. Während bei Anwendung der Originalmethode von NOLL die Objekte — infolge der Vorbehandlung mit Kalilauge — stark schrumpfen und die Hyphen nur blaß violett gefärbt sind, erscheinen nach unserem vereinfachten Verfahren Hyphen und ungekeimte Konidien kräftig blau und lassen sich in chloroplastenfreiem Gewebe leicht von dem nicht geschrumpften Wirtsgewebe unterscheiden. Ausgekeimte Konidien bleiben ungefärbt (siehe Abb. 2); der Farbstoff wird also offenbar im Plasma des Pilzes gespeichert. Für die Analyse der Entwicklung des Pilzes in chlorplastenhaltigem Gewebe ist die Methode weniger günstig, da die Chloroplasten durch die Anilinblau-Essigsäure ebenfalls gefärbt werden. Die wesentlichen Vorgänge bei der Infektion der Pflanze durch die Parasiten spielen sich jedoch in der Epidermis ab, so daß die oben beschriebene Methode völlig ausreichend ist. Diese hat überdies den Vorzug, daß sie eine schnelle Durchführung der Untersuchung gestattet.

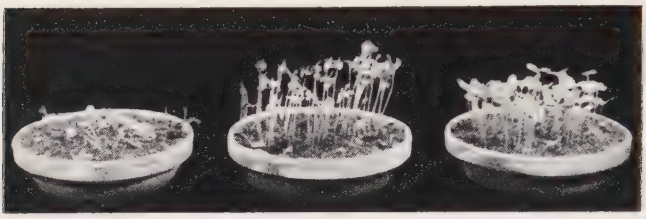


Abb. 1. Keimlinge fünf Tage nach der Infektion. Von links nach rechts: Lusatia (anfällig), R 1076/13 (halbresistent), R 569/2 (resistent)

Die Versuche wurden mit der im Handel befindlichen Zuchtsorte des Max-Planck-Instituts für Bastfaserforschung „Lusatia" sowie mit den Stämmen R 569/2 und 1076/3 durchgeführt. „Lusatia" ist gegen den benutzten Stamm S 209[1]) von *Colletotrichum lini* hochanfällig, R 569/2 ist völlig resistent, R 1076/13 ist ein stengelresistenter Typ.

Die stark anfällige Sorte „Lusatia" zeigt bereits am dritten Tage nach der Infektion auf der ganzen Pflanze nekrotische Flecken. Am vierten und fünften Tag nehmen die Keimblätter ein glasiges Aussehen an und zerfallen in wenigen Stunden. Inzwischen haben sich die Nekrosen an Wurzelhals und Hypokotyl so weit vergrößert, daß die Keimpflanzen umfallen und absterben (Abb. 1). Daneben wird bei starkem Befall auch die Wurzel ganz oder teilweise zerstört. Wenn die Hauptwurzel von der Infektion nicht erfaßt wird oder wenn Nebenwurzeln deren Funktion übernehmen, kommt es oft zu einer starken Verdickung am Hypokotyl oder am Wurzel-

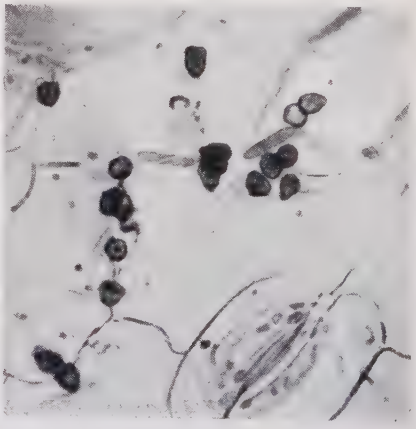


Abb. 2. Epidermis der Kotyledonen von Lusatia 24 Stunden nach der Infektion, Konidien zu Appressorien ausgekeimt. (Vergr. 500fach)

[1]) Der Stamm S 209 stellt nur eine Form aus einer ganzen Reihe von Biotypen dar und wurde auf Grund seines Infektionsverhaltens gegenüber den drei Leinsorten ausgewählt.

hals unterhalb der Infektionsstelle. Eine Regeneration aus diesen Gebilden wurde jedoch nicht beobachtet.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt folgendes Bild: 24 Stunden nach der Infektion sind die meisten Konidien unter Bildung der von SCHILLING beschriebenen Appressorien ausgekeimt (Abb. 2). Im Laufe der nächsten 24 Stunden dringen aus diesen Appressorien Hyphen durch die Kutikula in die Epidermiszellen ein (Abb. 3). Es konnte weder ein auf die Spaltöffnungen gerichtetes Wachstum noch überhaupt ein Eindringen in die Spalten beobachtet werden. Auch bei den Schließzellen erfolgt der Befall durch die Kutikula hindurch. In den Epidermiszellen verzweigen sich die Infektionshyphen stark unter Bildung von geweihartigen „Haustorien" (Abb. 4). Es können mehrere Hyphen in die gleiche Zelle eindringen, ohne daß sich die Haustorien gegenseitig beeinträchtigen (Abb. 4). Dieser Befund wird bestätigt durch die Beobachtung, daß über eine maximale Infektionsdichte hinaus keine Verstärkung, aber auch keine Schwächung des Befalls auftritt. Nach einer Pause von 10 bis 20 Stunden, in der Regel etwa von der 65. Stunde nach der Infektion an, beginnen die Haustorien zu langen Hyphen auszuwachsen (Abb. 5), die in wenigen Stunden die tieferliegenden Gewebe durchwuchern und so den beschriebenen Verfall der Wirtspflanze verursachen. Kurze Zeit nach dem Absterben der Wirtsgewebe treten am Myzel die ersten Konidienlager auf.

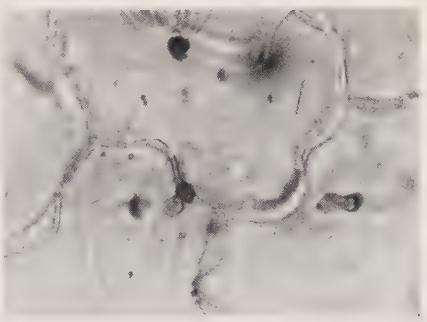


Abb. 3. Epidermis der Kotyledonen von Lusatia etwa 30 Stunden nach der Infektion. In Epidermiszelle eingedrungenes Haustorium. (Vergr. 500fach)

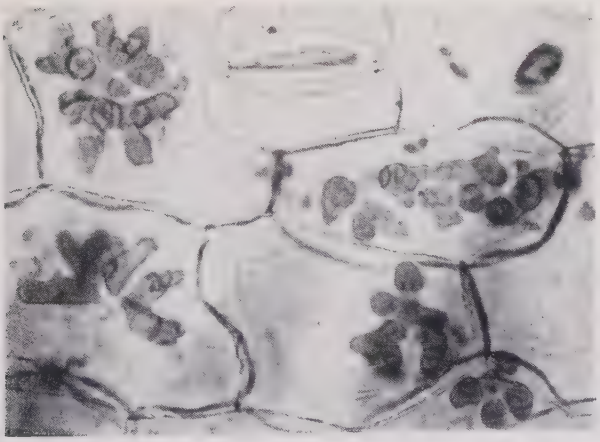


Abb. 4. Epidermis der Kotyledonen von Lusatia 48 bis 50 Stunden nach der Infektion. (Vergr. 500fach)

Ganz anders reagiert die resistente Sorte R 569/2 auf die Infektion. Die Keimpflanzen zeigen keine äußerlich sichtbaren Veränderungen, und nur auf wenigen Keimblättern erscheinen nach zwei bis drei Tagen die für die Krankheit charakteristischen Flecken, die jedoch nur selten das ganze Blatt erfassen. Der mikroskopischen Beobachtung bietet sich bis zum Eindringen der Infektionshyphen in die Epidermiszellen

das gleiche Bild wie bei „Lusatia“ (Abb. 6). Danach kommt es jedoch nur in Ausnahmefällen zur Ausbildung der geweihförmigen Haustorien und nach deren Auswachsen zu den erwähnten Gewebsnekrosen. Die meisten Zellen reagieren auf den Angriff des Pilzes mit einer Zellnekrose (Abb. 7 und 8),

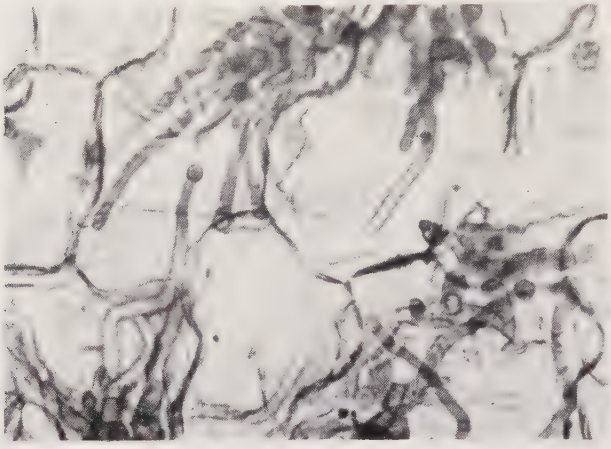


Abb. 5. Epidermis der Kotyledonen von Lusatia 65 Stunden nach der Infektion. Beginn des Auswachsens der Hyphen. (Vergr. 500fach)

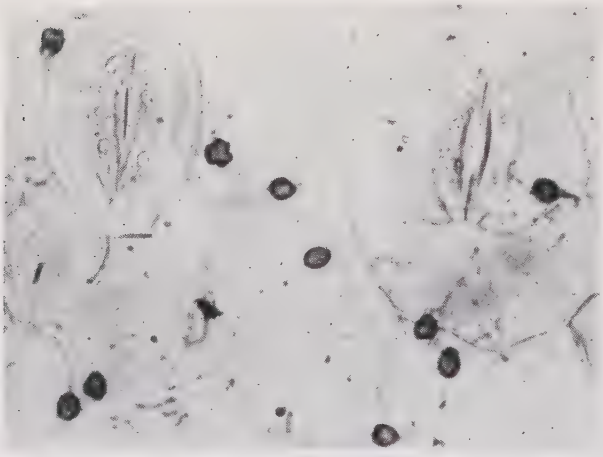


Abb. 6. Epidermis der Kotyledonen von R 569/2 30 Stunden nach der Infektion. (Vergr. 500fach)

die auch den eingedrungenen Parasiten mit zum Absterben bringt. Die Hyphen bleiben unverzweigt und treten in dem körnelig veränderten Zellinhalt wesentlich schwächer hervor als die Haustorien in den Zellen der anfälligen Sorten. Die schlechtere Speicherung des Farbstoffes läßt auf eine starke Veränderung des plasmatischen Inhalts der Pilzzellen schließen.

Die Sorte 1076/13 stellt einen Mitteltypus dar. Die Keimblätter verhalten sich bei der Infektion im wesentlichen wie die der anfälligen Sorten.

Neben den Haustorien und den sich daraus entwickelnden Stadien treten jedoch anfangs auch Zellnekrosen wie bei den resistenten Typen auf (Abb. 9). Hypokotyl und Wurzelhals der halbresistenten Typen verhalten sich wie die entsprechenden Teile der vollresistenten Pflanzen.

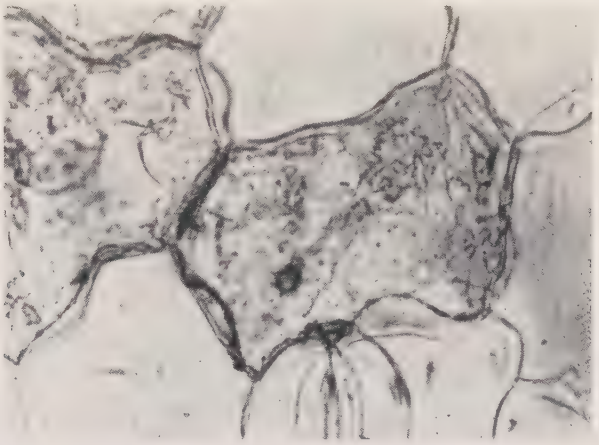


Abb. 7. Epidermis der Kotyledonen von R 569/2 65 Stunden nach der Infektion. (Vergr. 500fach)

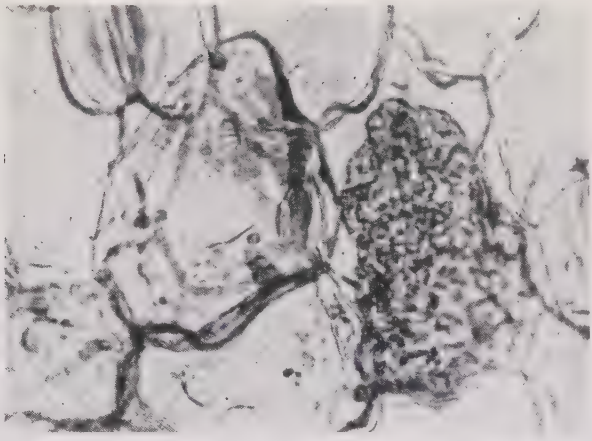


Abb. 8. Epidermis der Kotyledonen von R 569/2 65 Stunden nach der Infektion. (Vergr. 500fach)

Die vorliegenden Beobachtungen legen die Frage nach den Ursachen der Resistenz oder Anfälligkeit nahe. Anatomische Faktoren, wie die Dicke der Zellwände und der Kutikula, scheinen ohne Bedeutung zu sein, da sich bei den Untersuchungen keine meßbaren Unterschiede für die resistenten und anfälligen Leintypen ergaben, und da, wie oben beschrieben, der Parasit sowohl bei den anfälligen wie bei den resistenten Formen zunächst in die Epidermiszellen eindringt. Andererseits gelang es, die Konidien in den Preßsäften

Abb. 9. Epidermis der Kotyledonen von R 1076/13 50 Stunden nach der Infektion. (Vergr. 50fach)

der resistenten Pflanzen genau so gut zur Keimung zu bringen wie in den Preßsäften, die aus anfälligen Pflanzen gewonnen worden waren. Dies deutet darauf hin, daß die Resistenz hier nicht auf die Anwesenheit von für den Parasiten schädlichen oder auf den Mangel an für den Parasiten lebensnotwendigen Stoffen zurückzuführen ist. Wie Abb. 7 und 8 zeigen, handelt es sich bei den vorliegenden, gegenüber *Colletotrichum lini* resistenten Linien von *Linum usitatissimum* um eine aktive Resistenz. Es stirbt jeweils nur die befallene Zelle mit dem eingedrungenen Parasiten ab.

Zusammenfassung

Colletotrichum lini, der Erreger der Anthraknose des Leins, dringt bei anfälligen Sorten durch die Kutikula in die Epidermiszellen ein, bildet dort geweihartige Haustorien, breitet sich dann nach einer Pause von einigen Stunden in kurzer Zeit über die ganze Pflanze aus und bringt diese zum Absterben.

Resistente Leinsorten fangen den Parasiten durch Nekrose der befallenen Zellen ab und bringen mit dem Tod der Wirtszelle auch den Pilz zum Absterben. Die Konidien von *Colletotrichum* keimen in den Preßsäften von resistenten wie auch von anfälligen Sorten gleich gut. Es handelt sich bei den untersuchten Sorten von *Linum usitatissimum* demnach um aktive Resistenz.

Halbresistente Leinsorten zeigen an den Kotyledonen die gleichen Befallsbilder wie die anfälligen Sorten, während sie sich an den übrigen Teilen der Pflanze wie resistente verhalten.

Literaturverzeichnis

EGLITIS, M., 1947. Beitrag zur Mikroflora der Leinpflanzen von leinmüdem Boden. Contrib. of Baltic University Nr. 12.

— —, 1947. Ergebnisse der Resistenzprüfung des Leins für *Colletotrichum lini* Manns et Bolley. Contrib. of Baltic University Nr. 30.

GÄUMANN, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

KRÜGER, E., 1943. Untersuchungen über zwei der bedeutendsten Leinparasiten — *Colletotrichum lini* Manns et Bolley und *Septoria linicola* (Speg.) Gar. (*Sphaerella linorum* Wr.). Arb. Biologischen Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtschaft **23**, 163.

NOLL, A., 1943. Über den Nachweis von Rostmyzel im Gewebe der Wirtspflanze. Angewandte Botanik **25**, 24—28.

PETHYBRIDGE and LAFFERTY, 1918. A Disease of Flax Seedlings caused by a Species of *Colletotrichum,* and transmitted by infected Seed. Scientific Proc. of the Royal Dublin Society **15**, 359.

SCHILLING, E., 1922. Beobachtungen über eine durch *Gloeosporium lini* verursachte Flachskrankheit in Deutschland. Faserforschung **2**, 87.

WESTERDIJK, J., 1915. Anthracnose van het vlas. Phytopathol. Labor. „Willie Commelin Scholten", Jaarverslag, p. 6—7.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

Die Wirkungsweise von *Bacterium solanacearum* E. F. S., dem Erreger der tropischen Schleimkrankheit des Tabaks, auf *Solanum lycopersicum* L.

Von

R. Kunz

Mit 15 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kapitel: I. *Bacterium solanacearum* E. E. Smith, der Erreger der Tomatenwelke. II. Der Krankheitsverlauf. — 2. Kapitel: Der Mechanismus des pathogenen Welkeffektes. — 3. Kapitel: Stoffwechselprodukte von *Bacterium solanacearum* E. E. Sm. I. Literaturübersicht. II. Eigene Versuche; A. Nährlösungen; B. Welktests mit Kulturfiltrat. — 4. Kapitel: Transpirationsversuche mit *Solanum lycopersicum* L. I. Problemstellung. II. Methodik; A. Erste Versuchsreihe; a) Das frische, virulente Bakterium; b) Das rohe Inkubat; c) Das Kulturfiltrat; d) Diskussion; e) Fraktionierung in Alkohol; B. Zweite Versuchsreihe; a) Schleimstoffe von *Bacterium solanacearum* (1. Fraktion); b) Schleimstoffe aus lindem Wein; c) Diskussion; C. Dritte Versuchsreihe; a) 4. Fraktion; b) Diskussion. — 5. Kapitel: Besprechung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die wirtschaftliche Bedeutung von *Bacterium solanacearum* E. F. Smith ist bei einigen Großkulturen der Weltwirtschaft ganz erheblich. Der Parasit verursacht eine spezifische, übertragbare Welkkrankheit von *Solanum lycopersicum* L., *Solanum tuberosum* L., *Nicotiana tabacum* L., aber auch *Arachis hypogaea* L., um nur die wirtschaftlich wichtigsten zu nennen.

Die Ausbreitung dieser sehr infektiösen Krankheit beschränkt sich auf den tropischen und subtropischen Klimagürtel.

Im ersten Kapitel gehen wir kurz auf den Erreger und den Krankheitsverlauf ein.

Im zweiten Kapitel sollen zur besseren Verständlichkeit der Transpirationsversuche die wesentlichsten Ergebnisse grundlegender Untersuchungen auf dem Gebiete der Physiologie des pathologischen Welkens zusammengefaßt werden.

Die Stoffwechselprodukte von *Bacterium solanacearum* und die Transpirationsversuche werden im 3. und 4. Kapitel behandelt.

1. Kapitel

I. *Bacterium solanacearum* E. F. Smith, der Erreger der Tomatenwelke

Da das Bakterium seine Lebensfähigkeit auf künstlichen Nährsubstraten innerhalb weniger Wochen verliert, mußte es durch häufige Passagen stimuliert werden. Die Kulturen wurden unter sterilem Paraffinöl aufbewahrt.

Ein von der American Type Culture Collection, Washington, gelieferter Stamm wurde zu regelmäßigen Infektionsversuchen an etwa 20 cm hohen, jungen Pflanzen verwendet. 24 Stunden alte Schrägagarkulturen wurden in 3 cm^3 sterilem Wasser emulgiert und die Bakterienaufschwemmung durch eine Injektionsspritze an drei Stellen des Stengels eingeimpft. Nach dem Zusammenbruch der Pflanze wurden möglichst schwach lädierte Stengelsegmente im Impfkasten durchschnitten, der Saft zusammen mit den Bakterien aus der Schnittfläche gepreßt, mit einer sterilen Platinöse aufgefangen und durch Zickzackstrich auf den Agar übertragen. Die so zurückisolierten Kulturen wurden durch Gießen von Verdünnungsreihen gereinigt.

II. Der Krankheitsverlauf

Bei Spontaninfektionen auf dem Felde dauert die Inkubationszeit je nach Bodentemperatur und Alter der Pflanzen einige Tage bis Wochen. Sobald der infizierte Boden durch Bearbeitung oder durch Wasser in Bewegung gebracht wird, breitet sich der Erreger aus (VAUGHAN, 1944), worauf er durch die Wurzeln in die Wasserleitungsbahnen der Pflanzen dringt, mit dem Saftstrom und durch eigene Bewegung nach oben getragen wird und sich gewaltig vermehrt.

Bei Infektionsversuchen unter optimalen Umweltbedingungen (Infektionskabine) benötigt der Parasit zur Vernichtung junger Tomatenpflanzen durchschnittlich vier Tage: Ein bis zwei Tage nach der Impfung stellt sich ein leichtes Erschlaffen der Blattstiele und der zarten Wipfeltriebe ein. Gleichzeitig beginnen erst die unpaaren, dann sämtliche Fiedern zu welken: Die Blattspreiten färben sich um die zentrale Rippe herum dunkler und erschlaffen. Die von Bakterien überschwemmten Gefäßbündel werden braun; die Bahnspur des Erregers zeichnet sich als dunkle Streifen, später als tiefe Rillen, vom Grün des Stengels ab. Ein oder zwei Tage später welkt die Pflanze schlagartig. Die lädierten Stengelregionen schrumpfen auf Fadendünne, und an den vollends erschlafften Stielen hängen die nunmehr stark gedunkelten, geschrumpften Blätter.

Bei starker Verholzung der Pflanze rollt der Krankheitsverlauf nicht mit dieser Heftigkeit ab. Die Pflanze weist unter Umständen wochenlang keine grobsinnlich wahrnehmbaren Symptome auf, doch zeigt sie sich im Wachstum behindert und neigt zur Bildung knötchenförmiger Adventivwurzeln am Stengel. Später senken sich die Blattstiele, das Blattwerk wird vorzeitig gelb und stirbt allmählich ab, während der Stengel bis zum Tod der Pflanze aufrecht und turgeszent bleibt.

Die Krankheit ist vornehmlich eine solche der Gefäßbündel, deren Zellwände durch die sich anhäufenden Bakterien an den dünnen Stellen gesprengt oder, bei schwacher Verholzung, aufgelöst werden. Nach der Durchbrechung des Xylems strömt der Erreger in die Interzellularräume, löst die Mittellamelle auf, und die getrennten Zellen werden durch die sich vermehrenden Bakterien zerquetscht und abgedrängt. Das Parenchym, speziell dasjenige des Markes, wird desorganisiert (Smith, 1914).

Bei der mikroskopischen Untersuchung eines durchschnittenen Stengelsegmentes sieht man die Bakterien als schmutzig-gelben, von einer amorphen, schleimigen Substanz begleiteten Strom aus den Holzgefäßen austreten.

2. Kapitel

Der Mechanismus des pathogenen Welkeffektes

Es wurde schon früh vermutet, daß der Parasit die Pflanzen schädige, indem er die Lebensvorgänge im Wirtsorganismus durch die Ausscheidung giftiger Stoffwechselprodukte störe. Genau konnte der Sachverhalt indessen erst geklärt werden, als ein toxisches Agens in chemisch reiner Form vorlag.

Es sei hier vor allem auf das an diesem Institut in Zusammenarbeit mit dem chemischen Institut der E. T. H. isolierte *Lycomarasmin* hingewiesen. Dieses ist ein durch *Fusarium lycopersici* Sacc., den Erreger der Tomatenwelke, gebildeter Welkstoff (vgl. u. a. Plattner und Clauson-Kaas, 1945).

1947 isolierten Hodgson, Riker und Peterson aus Kulturen von *Phytomonas tumefaciens,* dem Erreger des bakteriellen Pflanzenkrebses, ein *Glukosan,* das ein an die Lycomarasminwelke erinnerndes Krankheitsbild auslöst.

Gäumann und Jaag (1947) stellten Transpirationsversuche an mit *Patulin,* einem Antibiotikum, das als unspezifisches Plasmagift wirkt (vgl. u. a. Gäumann, Jaag und Braun, 1947).

Brian und Mitarbeiter (1949) isolierten aus Kulturen von *Alternaria solani,* dem Erreger der Dörrfleckenkrankheit der Kartoffelblätter, ein biologisch aktives Stoffwechselprodukt, die *Alternariasäure,* die ein vollkommen ähnliches Krankheitsbild auslöst wie Lycomarasmin.

In den letzten Jahren wurde am hiesigen Institut der Wirkungsmechanismus dieser pathogenen Agenzien an Hand des Wasserhaushaltes der Versuchspflanzen *(Solanum lycopersicum* L.) untersucht. Es sei hier besonders auf die Artikelserie „Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens" von Gäumann und Jaag (1947) hingewiesen. Diese Untersuchungen liefern die Ausgangslage für die vorliegende Arbeit.

Aus allen diesen Untersuchungen geht hervor, daß die Ursachen des spontanen physiologischen und des pathologischen Welkens auf ganz verschiedener Ebene liegen. Die Pflanze welkt physiologisch, weil bei praktisch unveränderter Wasserabgabe aus Gründen der Umwelt kein Wassernachschub erfolgt und infolgedessen die Wasserreserven schwinden. Beim pathologischen Welken wird die Wasserbilanz durch den Angriffspunkt des pathogenen Agens bestimmt: beim toxigenen Welken (*Lycomarasmin, Alter-*

nariasäure, Patulin) wirkt es auf das Plasma, beim physikalisch induzierten Welken *(Tumefaciens glukosan, Inulin)* wirkt es auf die Zellwand.

Das toxische Agens bewirkt eine Störung der Plasmagrenzschicht, was sich im Wasserhaushalt durch eine Schockphase, das ist eine gleichzeitige Drosselung der Wasseraufnahme und der Wasserabgabe, kennzeichnet. Nach der Schädigung der semipermeablen Membran reagiert das Plasma, indem es koaguliert, sich aussteift und bisher gebundenes Wasser in den Transpirationsstrom hinaustreten läßt. Dieses Überangebot an Feuchtigkeit äußert sich in einem Transpirationsparoxysmus. Nach der Übersteigerung der Transpiration setzt eine fortschreitende Lähmung des Wasserhaushaltes ein.

Auch Alternariasäure löst diesen Koagulaseeffekt aus; aber gleichzeitig mit dem Transpirationsparoxysmus setzt auch ein abrupter Aufstieg und Abstieg der Wasseraufnahme ein. Dieser Kurvenverlauf ist vorläufig noch nicht zu deuten (GÄUMANN, KERN und SAUTHOFF, 1952).

Glukosane und andere hochmolekulare, chemisch inerte Verbindungen wirken rein mechanisch. Sie blockieren gleichzeitig und in gleicher Weise Wasseraufnahme und Wasserabgabe, indem sie die Interzellarräume verstopfen und die Pflanze zum „inneren Verdorren" bringen.

Sowohl das toxigene als auch das physikalisch induzierte Welken sind nach Überschreitung einer gewissen Wirkungsschwelle irreversibel.

Zwar berichten FEDER und ARK (1951) über einen Polysaccharid-polypeptid-lipidkomplex, ein Endotoxin aus *Phytomonas tumefaciens*, dessen Welkeffekt reversibel sei. Da die Wasseraufnahme nach Entfernung des blokkierten Stengelteils wieder einsetzt, wäre das Welken in diesem Falle auf grobmechanische Unterbindung des Wassernachschubes zurückzuführen. Über die Lokalisierung und Ausprägung der Symptome wird nichts Näheres berichtet, außer daß das Welken progressiv vom Wipfel zur Stengelbasis fortschreite und auch die Blattstiele erfasse.

3. Kapitel

Stoffwechselprodukte von *Bacterium solanacearum* E. F. Smith

I. Literaturübersicht

Durch die Beobachtung „einer Art von Zwergwuchs" an erkrankten Pflanzen gelangten KRUEGER und ALSBERG (1924) zur Vermutung, daß *Bacterium solanacearum* ein Toxin bilde. Sie unterwarfen eine zwei Monate lang inkubierte, vorwiegend mineralische Nährlösung der chemischen Analyse und fanden im fermentierten Substrat kleine Mengen Essigsäure und Äthylalkohol sowie beachtliche Quantitäten von Aminen und Ammoniak. Die Kulturfiltrate wurden nicht auf Toxizität getestet.

1926 zitierte Rosen eine Arbeit von Hutchinson (1913), wonach dieser aus reinen Bouillonkulturen von *Bacterium solanacearum* durch Fraktionierung mit Alkohol einen thermolabilen Stoff gewonnen habe, der Tomatenpflanzen zum Welken brachte.

Auch Smith (1914) vermutet, daß das Auftreten knötchenförmiger Adventivwurzeln am Stengel auf eine Stimulierung durch das Bakterium zurückzuführen sei, und daß die Stoffwechselprodukte des Parasiten auf die Stärkezellen von *Solanum tuberosum* tötend oder lähmend wirken.

II. Eigene Versuche

A. Nährlösungen

Für die Welktests wurden vier Nährmedien benützt. Während sich das Bakterium in reiner Bouillon und dem von Gallegly und Walker (1949) empfohlenen Substrat am üppigsten vermehrt, eignen sich synthetische Medien nach Rose Mushin (1938) vor allem zur Aufbewahrung der Kulturen.

Mushin benützt Zusammensetzungen von Verbindungen, die in ähnlicher Form im Xylem und Phloem angetroffen werden. Jede Nährlösung enthält eine Standardmineralösung, bestehend aus:

K_2HPO_4	0,31 %
KH_2PO_4	0,08 %
KCl	0,02 %
$MgSO_4$	0,02 %

Als Stickstoff- und Kohlenwasserstoffquellen wurden auf 1000 cm³ Aq. dest. benützt:

Pepton	3 g
oder Glukose +	5 g
KNO_3	2 g

Diesen Nährlösungen wurden kleine Mengen Extraktes aus frischen Tomatenpflanzen beigefügt, das auf das Wachstum der Bakterien sehr stimulierend wirkt. Das pH wurde in allen Fällen auf 6,8 adjustiert.

Die Zusammensetzung des Mediums nach Gallegly-Walker:

Bacto-pepton	10 g
Dextrose	10 g
Fleischextrakt	3 g
Aq. dest.	1000 cm³

Zur Bereitung der Bouillon wurden 3 kg fettfreies Ochsenfleisch in acht Liter Aq. dest. zwei Stunden lang gekocht, filtriert und anschließend in den Kühlraum gestellt. Nach dem Erstarren noch vorhandenen Fettes wurde die Brühe durch Faltenfilter filtriert und das Volumen auf zehn Liter ergänzt. Nach der ersten Autoklavierung, während welcher gewisse Eiweißstoffe ausflocken, wurde die Lösung nochmals filtriert und, nach Einstellung des pH, ein zweites Mal autoklaviert.

Als Impfmaterial gelangten ausschließlich frisch zurückisolierte, stark pathogene Kulturen zur Anwendung. Die Nährlösungen wurden im Gärtank

sieben Tage lang bei Optimaltemperatur inkubiert. Alle 24 Stunden wurde eine Probe entnommen, im Mikroskop auf Reinheit geprüft, in g-5-Bakterienfiltern von Zellen gereinigt und bis zum Pflanzentest kurzfristig bei 0° C aufbewahrt.

B. Welktests mit Kulturfiltrat

Die folgenden Tests sind Tastversuche. Im Hinblick auf die Transpirationsversuche war die Wahl eines geeigneten Nährsubstrates zu treffen, das folgende Vorzüge aufzuweisen hat:

1. Üppige Vermehrung des Bakteriums.
2. Größtmögliche Anreicherung bakterieller Stoffwechselprodukte.
3. Zuträglichkeit für die Versuchspflanze.

Als Testpflanze diente *Solanum lycopersicum;* es wurde das jüngste Blatt des Wipfelsprosses verwendet.

Die Kulturfiltrate wurden in vier Konzentrationen (1, 3/4, 1/2, 1/4) in Petrischalen gegossen. In jede Schale wurden zehn Testblätter getaucht. Als Kontrolle dienten die sterilen, unvergorenen Nährlösungen und destilliertes Wasser. Nach 24 Stunden wurden die Blätter nach Schäden untersucht; dabei wurde taxiert: ganzes Blatt welk = 1; Blatt leicht gewelkt = 1/2.

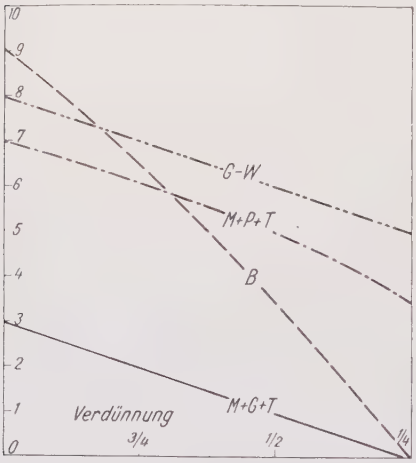


Abb. 1. Die Wirksamkeit vier verschiedener Kulturfiltrate nach dreitägiger Inkubation. B = Bouillon, M + P + T = Mushin + Pepton + Tomatenextrakt, M + G + T = Mushin + Glukose + KNO_3 + Tomatenextrakt, G—W = Gallegly-Walker. Abszisse: Verdünnung; Ordinate: Anzahl gewelkte Blätter

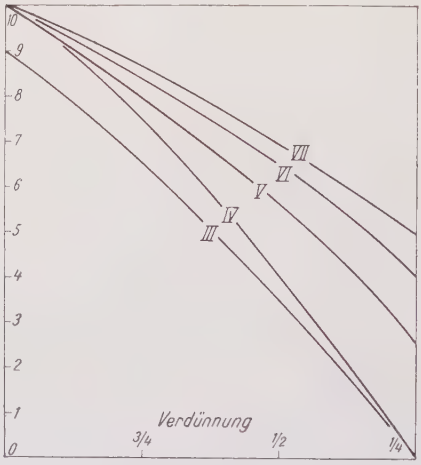


Abb. 2. Die Wirksamkeit von Kulturfiltraten aus inkubierter Bouillon. Römische Zahlen: Inkubationszeit in Tagen. Abszisse: Verdünnung; Ordinate: Anzahl gewelkte Blätter

Die Kulturfiltrate zeigten erst vom dritten Inkubationstage an einen pathogenen Effekt.

Es fällt auf, daß nur die Kulturfiltrate peptonhaltiger Nährlösungen über die Verdünnung von 0,25 hinaus wirken (vgl. Abb. 1). Auch wiesen ver-

schiedene Kontrollblätter leichte Schäden auf; deshalb gelangten peptonhaltige Substrate später nicht zur Anwendung. Am verträglichsten erscheinen Bouillon und M+G+T.

Schon Abbildung 1 zeigt, daß der Stoffwechsel des Bakteriums in Bouillon am lebhaftesten ist. Abbildung 2 veranschaulicht deutlich die fortschreitende Anreicherung von giftigen Stoffwechselprodukten in diesem Substrat. Im Kulturfiltrat der sechs Tage lang inkubierten Bouillon wiesen z. B. alle gewelkten Blattfiedern um die Blattrippen herum nekrotische, von einem bräunlichen Exsudat bedeckte Veränderungen auf.

Der Zeitpunkt der maximalen Anreicherung giftiger Stoffwechselprodukte ist uns nicht bekannt, da die Kulturfiltrate auf feinere, biologische Teste (z. B. Sporenkeimungstest) nicht ansprechen. Kulturfiltrate der sechs Monate lang inkubierten Bouillon erwiesen sich aber noch als sehr toxisch.

Nach diesen Erfahrungen schien, auch in bezug auf die Zuträglichkeit für die Versuchspflanzen, reine Fleischbouillon mit pH 6,8 am dienlichsten. Zugleich konnte direkt an die Untersuchungen von Hutchinson angeknüpft werden.

Auf eine künstliche Belüftung der Nährlösungen wurde in der Folge verzichtet. Die Kolben wurden nach der Beimpfung für fünf bis sechs Monate in einen auf 28 ° C geheizten Raum gebracht.

In der unbewegten Nährlösung vermehrt sich *Bacterium solanacearum* langsam. Innerhalb vier bis sechs Wochen färbt sich die Bouillon braun; ihre Oberfläche überzieht sich mit einer weißlichen Haut, und am Boden setzt sich mit der Zeit ein reichliches, u. a. aus toten Zellen bestehendes Sediment nieder.

4. Kapitel

Transpirationsversuche mit *Solanum lycopersicum* L.

I. Problemstellung

Versuche mit Tomatenblättern bestätigen, daß *Bacterium solanacearum* welkeauslösende Stoffwechselprodukte ausscheidet.

Wie im zweiten Kapitel kurz umrissen wurde, steht ein Grundstock von Kenntnissen zur Verfügung, die es ermöglichen sollten, aus charakteristischen Manifestationen in der Wasserbilanz Rückschlüsse auf die Wirkungsweise und somit auch auf den Chemismus des pathogenen Agens zu ziehen.

Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, bisherige Erfahrungen auf dem Gebiete der Physiologie des pathologischen Welkens deduktiv zu verwerten.

Natürlich ist nicht zu vergessen, daß Gäumann und Jaag mit chemisch reinen Welkstoffen arbeiteten. Wenn nun aber die gesamten Stoffwechselprodukte des Bakteriums oder auch nur das reine Bakterium der Pflanze vorgesetzt werden, so muß von vornherein mit einer recht komplizierten Überlagerung, eventuell Summation, verschiedener Effekte, wie z. B. *toxischer, physikalischer, enzymatischer* oder *grobmechanischer,* gerechnet werden. Eine weitere Schwierigkeit liegt darin, daß der

Welkmechanismus der Testlösungen in erster Linie aus dem Kurvenverlauf des Wasserhaushaltes gedeutet werden muß, da die Krankheitsbilder trotz verschiedener Mechanismen z. B. beim toxigenen und beim physikalisch induzierten Welken weitgehend miteinander übereinstimmen können. Es dürfen deshalb, nach GÄUMANN und JAAG (1950), aus allfälligen Phänokopien der Krankheitssymptome keine Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus gezogen werden. Nur dort, wo mit einer typischen pathologischen Veränderung des Wasserhaushaltes eine entsprechende elektive Affinität zwischen den Giften einerseits und den Wirtsgeweben andererseits einhergeht, kann über den Typus des Welkstoffes etwas Bestimmtes ausgesagt werden.

Selbstverständlich kann die Ausprägung der Krankheitssymptome beim Transpirationsversuch mit abgeschnittenen Sprossen nicht dieselbe sein wie bei Infektionsversuchen. So sind denn auch die Bahnspuren des Bakteriums beim Transpirationsversuch grobsinnlich nicht feststellbar; in einer wurzellosen Pflanze, die sich unter extremen Umweltbedingungen irgendwie anormal verhält und vermutlich auch stark sensibilisiert ist, verfügt der Erreger schließlich nur über rund 30 Stunden, um sich auf dem natürlichen Substrat zu vermehren. Trotzdem erfolgt der Zusammenbruch der Pflanze schon nach 24 Stunden, also um ein Mehrfaches früher als in der Infektionskabine.

II. Methodik

Die Versuchseinrichtung entsprach im wesentlichen derjenigen, die GÄUMANN und JAAG für ihre Transpirationsversuche benützten. Als Versuchsraum diente ein geschlossener Kellerraum, dessen Temperatur durch elektrische Heizung konstant gehalten wurde. Um dem Bakterium natürliche, d. h. tropische Umweltbedingungen zu verschaffen, wurde die Lufttemperatur auf 37° C gehalten. Mit Druckluft gespeiste Wasserdüsen sorgten für eine angemessene relative Luftfeuchtigkeit von 95 %. Diese Werte schwankten, bei ständiger Überwachung des Systems, nur unwesentlich, so daß in Leitungswasser getauchte Sprosse das extreme Klima länger als 48 Stunden aushielten, ohne Schaden zu nehmen. Die Bestimmung der Luftfeuchtigkeit erfolgte durch ein elektrisch angetriebenes Aßmannsches Aspirationspsychrometer, während ein Thermograph und ein Haarhygrograph Störungen sichtbar machten. Alle Heizspiralen waren mit Quecksilberthermostaten verbunden. Für die Luftumwälzung sorgte ein Ventilator.

Die Ablesung der Wasseraufnahme erfolgte potetometrisch, während die Wasserabgabe über den verlängerten Waagebalken durch eine Lichtpunktquelle mit Linse auf Bromsilberpapier projiziert wurde. Dieses war auf eine Registriertrommel aufgezogen, die in der Stunde 10 mm zurücklegte. Nach der Eichung der Waage konnte aus dem Photogramm die in der Zeiteinheit abgegebene Wassermenge abgeleitet werden.

Die aus gleichen Vorkulturen stammenden Tomatenpflanzen der Sorte *Tuckswood* wurden über dem Wurzelansatz abgeschnitten, mindestens zwölf Stunden lang zur Adaptierung in den Versuchsraum gestellt und vor

dem eigentlichen Versuch während drei bis vier Stunden auf die Ausgeglichenheit ihrer Transpiration geprüft. Für diese extremen Umweltbedingungen eigneten sich am besten etwa 80 cm hohe, ziemlich stark verholzte Exemplare.

Es sei vorweggenommen, daß es sich bei allen geschilderten Beispielen um das typischste aus einer Versuchsreihe handelt.

A. Erste Versuchsreihe

a) Das frische, virulente Bakterium

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln,* wenn statt reinen Wassers dauernd eine Wasseraufschwemmung von *Bacterium solanacearum* nachgeschoben wird?

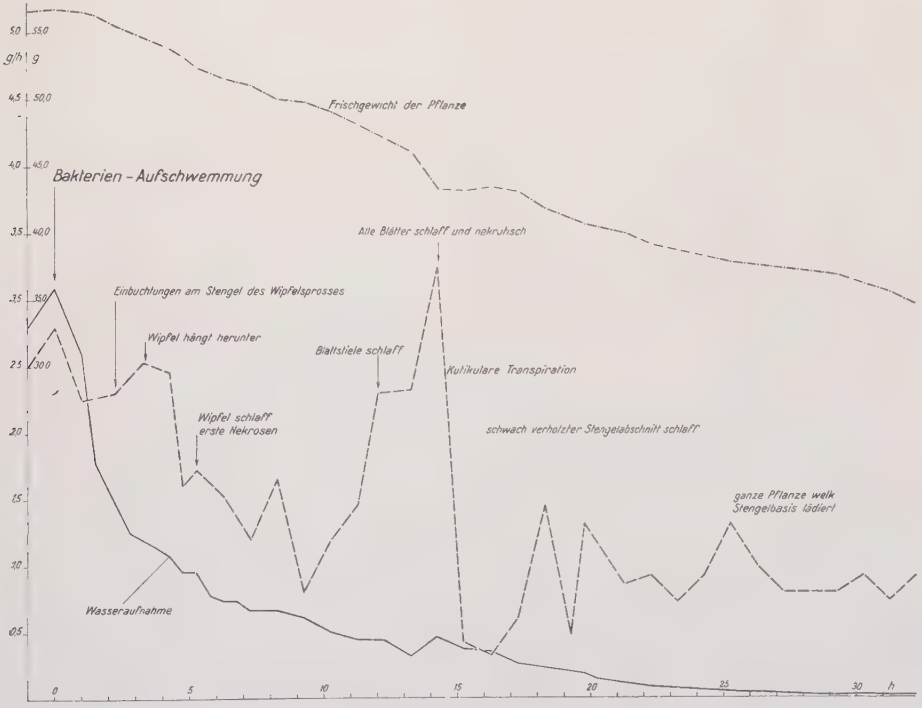


Abb. 3. Der Einfluß einer Wasseraufschwemmung von *Bacterium solanacearum* bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

Kulturen eines frisch zurückisolierten Bakterienstammes wurden auf Walker-Agar in 500-cm³-Erlenmeyerkolben 24 Stunden lang inkubiert. Unmittelbar vor Versuchsbeginn wurde steriles, auf 37 °C erwärmtes Leitungswasser sorgfältig in die Kolben gegossen, diese leicht geschwenkt, und das nun opalweiße, bakterienhaltige Wasser der Pflanze vorgesetzt.

Nach dem Bakterienzusatz setzt augenblicklich eine Drosselung sowohl der Wasseraufnahme als auch der Wasserabgabe ein. Während die Aufnahme bis zur dritten Versuchsstunde schroff, dann aber kontinuierlich von 3,1 auf 0,6 g/h herabgesetzt wird, sinkt die Abgabe während der ersten neun Stunden unregelmäßig von 2,8 auf 0,8 g/h. Sie ist aber immerhin durchschnittlich 40 % höher als die Wasseraufnahme, so daß sich das Frischgewicht der Pflanze um rund 10 % vermindert.

Zwischen neunter und fünfzehnter Versuchsstunde setzte ein abrupter Aufstieg und Abstieg der Wasserabgabe ein. Der Höhepunkt der Knickung ist nach etwa fünf Stunden erreicht; die Wasserabgabe ist in dieser Zeit von 0,8 auf 3,2 g/h, also deutlich höher als zu Versuchsbeginn, emporgeschnellt. Bei stetig bis auf rund 0,4 g/h sinkender Wasseraufnahme hat das Frischgewicht um ungefähr 20 % abgenommen.

Abb. 4. Das Schädigungsbild an einem Tomatenblatt nach 12stündiger Einwirkung einer Bakterienaufschwemmung. Zerstörung der Spreite von der zentralen Blattrippe aus

Im Verlauf einer Stunde knickt die Transpirationskurve scharf nach unten um: von 3,2 auf 0,3 g/h; also unter den Betrag der Wasseraufnahme, so daß das Frischgewicht eine kleine Erhöhung erfährt.

Von nun an bleibt der Wasserhaushalt bis zum Versuchsabbruch stark gelähmt.

Die Krankheitssymptome werden schon nach zwei Stunden sichtbar. Das Stengelsegment des Wipfelsprosses buchtet sich ein. Eine Stunde später hängt der Wipfelsproß herunter; seine Fiederblätter sind noch turgeszent. Erst nach rund drei Stunden erschlaffen auch sie. Zu diesem Zeitpunkt treten erst an den unpaaren, dann an sämtlichen Blattfiedern nekrotische Veränderungen auf. Von der zentralen Blattrippe breiten sich *distal* dunkle Flecken aus, die schnell konfluieren, so daß die Blattgewebe einem raschen Zerfall entgegengehen.

Die Blätter werden schlaff, stark dunkelgrün, schrumpfen und fühlen sich schwammig an. Nach der zehnten Versuchsstunde erschlaffen alle Blattstiele, während die Nekrosen immer häufiger auftreten. Unterdessen ist auch das obere, schwach verholzte Stengeldrittel leicht erschlafft; im Verlauf von rund zehn Stunden kollabiert es völlig. Es weist keine Rillen oder Einknickungen auf, sondern ist bei unverändertem Durchmesser weich, biegsam, gedunkelt und fühlt sich schwammig an. Es ist in sich zusammengesackt. Die Vermutung liegt nahe, daß es sich hier um einen lytischen Effekt durch das Bakterium handeln könnte. Dieses ist ja, nach SMITH, befähigt, schwach verholzte Zellwände aufzulösen.

Die Stengelbasis weist, auf einer Länge von ungefähr 6 cm, tiefe Rillen auf. Diese Lädierung, gefolgt von einer Schrumpfung auf rund 70 % des ursprünglichen Durchmessers, zwang zum Abbruch des Versuches.

Das geschilderte Beispiel war der dritte aus einer Reihe von vier Versuchen, die unter gleichen Umweltbedingungen durchgeführt wurden. Der zweite Versuch, bei dem eine um rund 40 % übersteigerte Wasserabgabe registriert wurde, mußte wegen eines technischen Versagens abgebrochen werden.

Die folgenden wesentlichen Merkmale treten uns in den Kurven der Abbildung 3 entgegen:

1. Die Schockwirkung. Sie setzt sowohl die Wasseraufnahme als auch die Wasserabgabe auf unter ein Drittel des Anfangsbetrages herab.
2. Die vorübergehende Übersteigerung der Wasserabgabe. Da der Wasserumsatz durch die hohe Luftfeuchtigkeit ohnehin gehemmt ist, muß dieser steile Anstieg als *Paroxysmus* gewertet werden.
3. Die fortschreitende Lähmung des Wasserumsatzes nach dem Paroxysmus.

Abb. 5. Das Schädigungsbild an einem Tomatensproß nach 12-stündiger Einwirkung einer Bakterienaufschwemmung

b) Das rohe Inkubat

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln*, wenn statt Wasser dauernd die mit *Bacterium solanacearum* inkubierte Nährlösung nachgeschoben wird?

Die Nährlösung wurde fünf Monate lang inkubiert. Die Oberfläche des Substrates war von einer kompakten, aus Bakterien bestehenden Haut überzogen und der Boden der Kolben von einem bis zu 1 cm hohen, weißlichen Sediment bedeckt. Das Inkubat wurde vor Versuchsbeginn vorsichtig auf 37 ° C erwärmt, die Suspension sorgfältig dekantiert und dem Sproß vorgesetzt. Im Ostwaldschen Viskosimeter betrug die Durchflußgeschwindigkeit der schleimigen Testsubstanz 45,2 Sekunden.

Innerhalb der ersten zwei Versuchsstunden setzt eine starke Drosselung sowohl der Wasseraufnahme als auch der Wasserabgabe auf rund 1/7 bzw. 1/6 des Anfangsbetrages ein. Diesem Abstieg folgt unmittelbar ein heftiger Anstieg der Wasserabgabe deutlich über die Anfangshöhe hinaus. Die Wasseraufnahme nimmt an dieser Übersteigerung vorübergehend in kleinem Maße teil, indem sie nach zwei Stunden ungefähr 50 %

ihres Ausgangswertes erreicht, anschließend aber unregelmäßig absinkt. Die Übersteigerung der Wasserabgabe hält rund 13 Stunden an, wirkt sich jedoch, bei der schon zu Versuchsbeginn stark gehemmten Transpiration, auf das Frischgewicht des Sprosses unbedeutend aus. Zwischen dreizehnter und fünfzehnter Versuchsstunde erfolgt der Abstieg der Wasserabgabe auf rund 30 %. Der weitere Transpirationsverlauf bleibt bis zum Versuchsabbruch gelähmt.

Die Krankheitssymptome: Herunterhängen des Wipfels, Bildung von Nekrosen, Erschlaffen der Blattstiele folgen sich in ungefähr gleichen Zeitabständen und in der gleichen Reihenfolge wie beim vorhergehenden Versuch. Der Stengel bleibt jedoch, mit Ausnahme des schwachen Wipfelsegmentes, turgeszent. Nach mehrmonatiger Inkubation hat das Bakterium offensichtlich seine Aggressivität eingebüßt.

Bei den Kurven von Abbildung 6 scheinen die folgenden Merkmale wesentlich zu sein:

1. Die Schockwirkung. In kürzester Zeit erfolgt ein starker Abstieg der Wasseraufnahme und -abgabe.

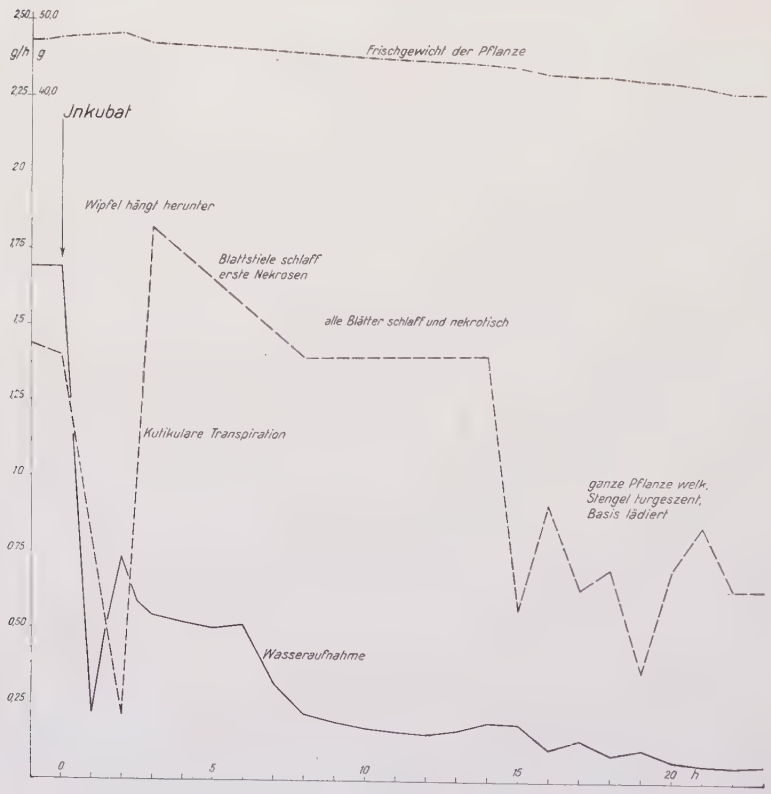


Abb. 6. Der Einfluß der mit *Bacterium solanacearum* inkubierten Bouillon bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

2. Die heftige Übersteigerung der Wasserabgabe. Sie erreicht schon nach weniger als zwei Stunden den Höhepunkt und fällt erst nach 13 Stunden wieder schroff ab.
3. Die fortschreitende Lähmung des Wasserhaushaltes.

c) Das Kulturfiltrat

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln*, wenn statt Wasser dauernd Kulturfiltrat nachgeschoben wird?

Das fünf Monate lang mit *Bacterium solanacearum* inkubierte Nährsubstrat verläßt den g-5-Bakterienfilter als klare, hellgelbe Lösung, deren Durchflußgeschwindigkeit im Ostwaldschen Viskosimeter 41,5 Sekunden (sterile Bouillon = 38,2 Sekunden) beträgt. Es müssen sich im Kulturfiltrat bakterielle Schleimstoffe befinden.

Nach der Verabreichung des Kulturfiltrates setzt während der ersten drei Stunden eine Drosselung des Wasserhaushaltes ein. Die Wasserabgabe vermag sich noch eine Stunde lang auf der Ausgangshöhe zu halten, sinkt dann aber innerhalb drei Stunden auf 1/10 ihres Anfangsbetrages, während die Wasseraufnahme in der gleichen Zeit nur auf rund 50 % absteigt

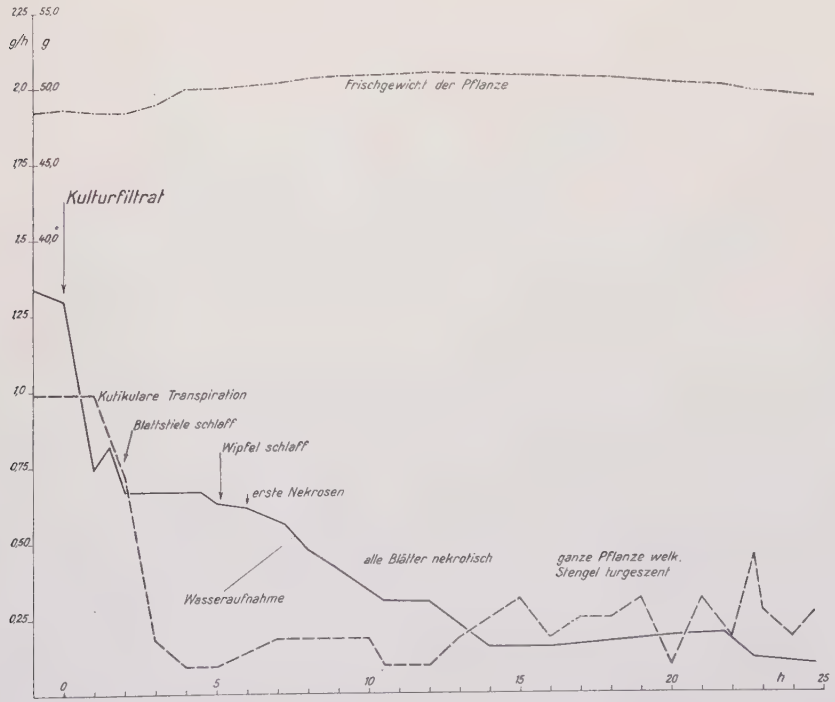


Abb. 7. Der Einfluß des aus inkubierter Bouillon gewonnenen Kulturfiltrates bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

und ihren Tiefstand allmählich erreicht. Bis die beiden Kurven ein annähernd gleiches Niveau erreichen, nimmt das Frischgewicht des Sprosses zu; nach dem Zusammenbruch der Pflanze ist es immer noch höher als zu Versuchsbeginn. Es zeigt sich damit wieder einmal, daß das Welken mit dem Wasserverlust in keinem kausalen Zusammenhang zu stehen braucht.

Schon nach der ersten Versuchsstunde senken sich die Blattstiele. Nach rund fünf Stunden erschlafft auch der Wipfel, und im Verlauf der folgenden zwei Stunden macht sich ein leichtes Einrollen der Blätter an den Fiedern der obersten Blätter bemerkbar. Die ersten Nekrosen zeichnen sich in den Interkostalfeldern als gelbliche Flecken ab, die in einzelnen Fällen vom Blattrand her fortschreiten.

Aus dem Kurvenverlauf von Abbildung 7 verdient festgehalten zu werden, daß nach dem abrupten Abstieg der Wasserabgabe die Übersteigerung ausbleibt. Der Verlauf der Kurven schließt jede zuverlässige Deutung aus.

d) Diskussion

Frage: Ist bei den geschilderten Beispielen hinsichtlich der Veränderung des Wasserhaushaltes eine Ähnlichkeit mit dem Wirkungsmechanimus *reiner* Welkstoffe festzustellen?

1. Bakterienaufschwemmung

Wie nach Lycomarasminzusatz folgt auf eine Schockphase eine Übersteigerung der Wasserabgabe. Diese pathologische Veränderung der Wasserbilanz läßt auf eine Schädigung der *Plasmagrenzschichten* und der *Protoplasten* durch eine toxische Komponente schließen.

2. Das Inkubat

Auch hier ist ein toxisches Agens wirksam. Die höhere Giftkonzentration verursacht eine heftigere Schockphase und einen länger anhaltenden Paroxysmus.

3. Das Kulturfiltrat

Nach einer starken Drosselung bleibt der Wasserhaushalt bis zum Zusammenbruch der Pflanze gelähmt. Da der Paroxysmus ausbleibt, sind wir bei der Deutung dieses Kurvenverlaufes auf Vermutungen angewiesen.

Wahrscheinlich handelt es sich um eine Kombination verschiedener, sich überlagernder Effekte. Am Welkvorgang sind offensichtlich auch glukosanähnliche Verbindungen beteiligt. Es soll deshalb versucht werden, durch Alkoholfraktionierung des vergorenen Nährsubstrates die verschiedenen Komponenten voneinander zu trennen.

e) Fraktionierung in Alkohol

Drei Liter Bouillon wurden mit *Bacterium solanacearum* geimpft, zwei Monate lang unbewegt bei 37 °C inkubiert und anschließend bei reduziertem Druck auf 300 cm^3 eingedickt.

Das zähflüssige Konzentrat wurde mit 1 Volumen absolutem Alkohol versetzt, worauf eine weißliche, grobflockige, aus *Zellen* und *Schleim* bestehende Masse ausfiel.

Der Niederschlag wurde gesammelt, die Restlösung eingedickt und in 1,3 Volumen absoluten Alkohol geschüttet. Der spärliche, fein suspendierte Niederschlag war identisch mit dem vorhergehenden.

Beide Niederschläge wurden in 60 %igem Alkohol gewaschen, bei 3000 Touren pro Minute abzentrifugiert und das Waschmittel zur Mutterlauge geschüttet.

Diese wurde, nach Abdestillierung des Alkohols, unter sorgfältigem Rühren in zwei Liter absoluten Alkohol gegossen. Der sehr reichliche Niederschlag bestand aus einer braunen, klebrigen, amorphen Masse, die in Wasser aufgelöst und in zehn Teilen absolutem Alkohol wieder ausgefällt wurde. Das feiner suspendierte Präzipitat setzte sich nach zwölfstündiger Lagerung im Kühlraum an der Becherwand fest. Es wurde mit 60 %igem Alkohol gewaschen.

Restlösung und Waschmittel wurden wiederum eingedickt. Bei diesem Prozeß setzte sich an der Wand des Destillierkolbens ein aus *farblosen Flittern* bestehender Niederschlag fest. Dieser wurde abdekantiert, zentrifugiert und in 60 %igem Alkohol gewaschen.

Die Mutterlauge erstarrte während des Eindickens zu einer amorphen, hellbraunen Masse.

Aus drei Fraktionen gingen also fünf Niederschläge folgender Beschaffenheit hervor:

1. zäh, weißlich, wasserunlöslich (Zellen und Schleim)
2. restlicher Schleim
3. dunkelbraun, klebrig, amorph, wasserlöslich
4. farblose Flitter, wasserlöslich
5. hellbraun, amorph, wasserlöslich.

3 und 5 gelangten für die Transpirationsversuche nicht zur Anwendung, da es sich um Ausfällungen unvergorener Bestandteile der Nährlösung handelt.

B. Zweite Versuchsreihe

a) Schleimstoffe von *Bacterium solanacearum* (1. Fraktion)

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln*, wenn statt Wasser dauernd die durch *Bacterium solanacearum* gebildeten Schleimstoffe nachgeschoben werden?

Der aus Zellen und Schleim bestehende Niederschlag wurde in sterilem Leitungswasser geschüttelt und im 0° C-Thermostaten zur Quellung gelagert. Nach drei Tagen wurde die trübe, zähflüssige Suspension bei 3000 Touren pro Minute zentrifugiert, wobei sich die Zellbestandteile absetzten; diese

wurden verworfen. Im Ostwaldschen Viskosimeter betrug die Durchflußgeschwindigkeit der ziemlich klaren Flüssigkeit 43,8 Sekunden (Leitungswasser = 37,6 Sekunden).

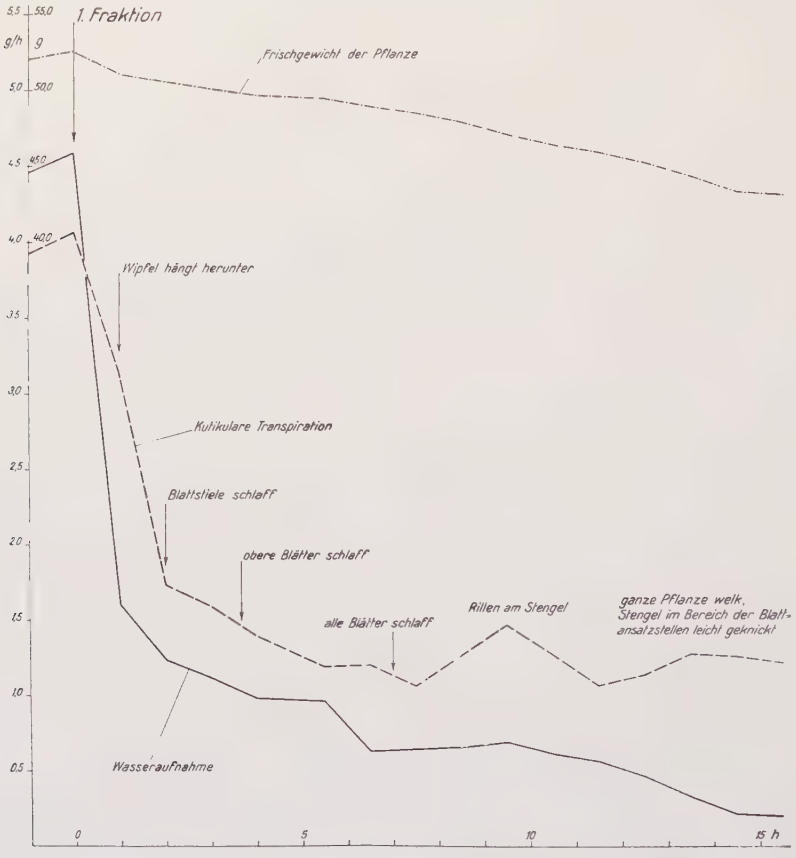


Abb. 8. Der Einfluß bakterieller Schleimstoffe *(Bact. solanacearum)* bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

Unmittelbar nach dem Zusatz der Testlösung wird der Wasserhaushalt gedrosselt. Während der ersten Stunde sinkt die Wasseraufnahme auf rund 30 %, die Wasserabgabe auf rund 75 % des Anfangsbetrages. Bis zur zweiten Stunde erfolgt der Abstieg abrupt: Wasseraufnahme und Wasserabgabe sinken steil auf nahezu 1/4 bzw. 1/3 ab; der Wasserverlust des Sprosses beträgt bis zu diesem Zeitpunkt kaum 4 %. Der übrige Verlauf der Kurven ist durch eine fortschreitende Lähmung des Wasserhaushaltes gekennzeichnet. Bis zum Zusammenbruch hat der Sproß etwa 20 % seines Frischgewichts eingebüßt.

Der Zusammenbruch der Pflanze erfolgt innerhalb kurzer Zeit. Schon eine Stunde nach Versuchsbeginn hängt der Wipfel herunter. Während der

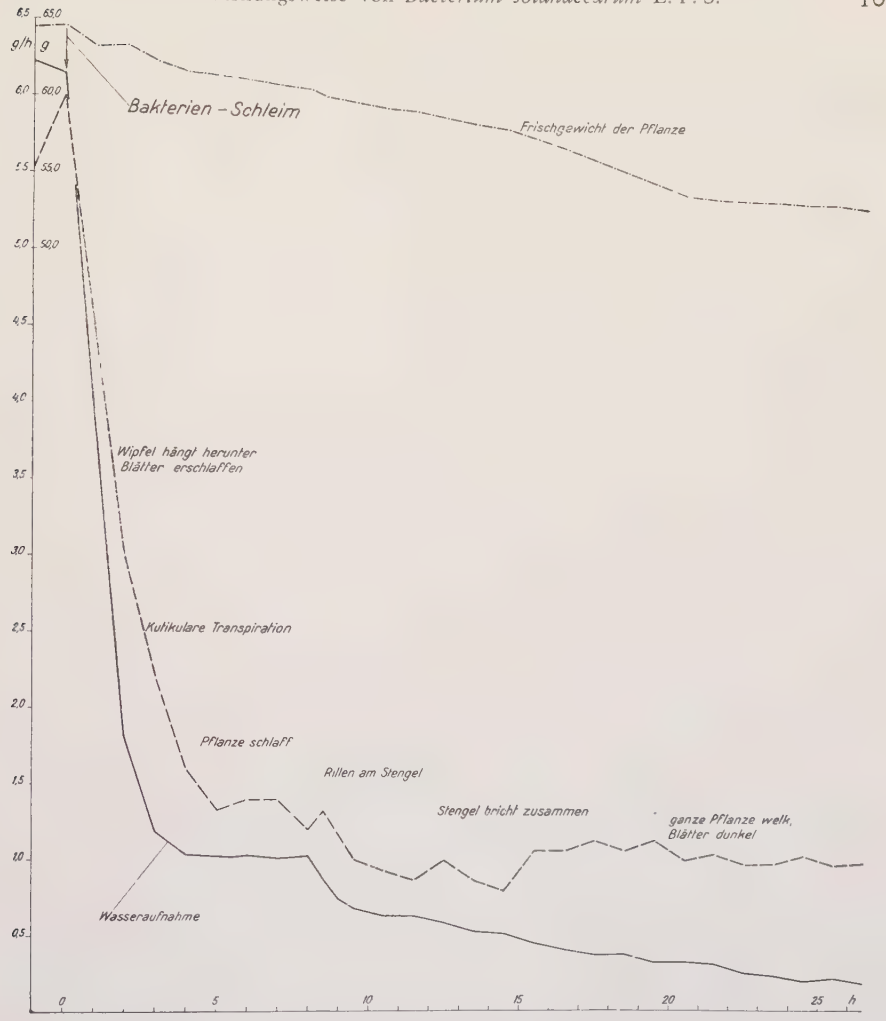


Abb. 9. Der Einfluß bakterieller Schleimstoffe aus lindem Wein bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

nächsten Stunde senken sich sämtliche Blattstiele, und im Verlauf der folgenden fünf Stunden erschlaffen erst die oberen, dann sämtliche Blätter. Die Fiedern verfärben sich dunkelgrün und scheinen wasserdurchtränkt. Vor dem Kollaps bilden sich am Stengel, in mittlerer Höhe und an der Basis, von unten nach oben fortschreitende R i l l e n. Nach zwölf Stunden knickt der Stengel an den B l a t t a n s a t z s t e l l e n ein.

Darauf wurde der Versuch abgebrochen und die Pflanze bei normalen Umweltbedingungen in Leitungswasser gestellt. Einige Stunden später waren die Blätter brüchig, aber immer noch grün.

Erstaunlicherweise nimmt an der Drosselung auch die Wasserabgabe teil. Die bakteriellen Schleimstoffe greifen n i c h t grobmechanisch in den

Wasserhaushalt ein, da die Kurve der Wasserabgabe nicht, wie beim spontanen physiologischen Welken, gleichmäßig und ausgeglichen verläuft.

Da es sich bei diesen Schleimstoffen um die Ausscheidung eines spezifischen Welkeerregers handelt und immerhin mit der Möglichkeit einer Verunreinigung durch aktive Verbindungen gerechnet werden mußte, lag der Gedanke nahe, den Einfluß von Schleimstoffen *nichtpathogener* Bakterien zu verfolgen. Herr Dr. LÜTHI von der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, dem auch an dieser Stelle gedankt sei, stellte für unsere Versuche *Schleimstoffe aus lindem Wein* zur Verfügung.

b) Schleimstoffe aus lindem Wein

Ein Gemisch von anaeroben und aeroben Bakterien, die Äpfelsäure und andere Extraktbestandteile anzugreifen vermögen, bewirken das Lindwerden des Weines. Sie bilden beim Wachstum wechselnde Mengen Schleimstoffe, die demWein seine fadenziehende Eigenschaft verleihen. Die Schleime sind sehr labil und werden schon durch kurzes Schütteln zerrissen. Es ist nicht möglich, das Lindwerden mit Reinkulturen künstlich herbeizuführen, so daß bis heute die Auffassung herrscht, daß die Erreger in Symbiose leben (MARTIN, 1948).

Abb. 10. Tomatensproß nach einem Transpirationsversuch mit Schleimstoffen aus lindem Wein. Einknickung des Stengels an den Blattansatzstellen; die Blätter sind geschrumpft und zum Teil verdorrt

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln*, wenn statt Wasser dauernd *Schleimstoffe aus lindem Wein* nachgeschoben werden?

Im Ostwaldschen Viskosimeter betrug die Durchflußgeschwindigkeit der Schleimprobe 48,6 Sekunden. (Zum Vergleich: Leitungswasser = 37,6, sterile Bouillon = 38,2 Inkubat = 45,2 Kulturfiltrat = 41,5 Schleimstoffe aus 1. Fraktion = 43,8 Sekunden.)

Nach dem Schleimzusatz sinken während der ersten zwei Stunden Wasseraufnahme und Wasserabgabe steil auf rund ein Drittel bzw. die Hälfte, nach fünf Stunden auf annähernd 15 % bzw. 20 % ihres Anfangsbetrages ab. Beim Zeitpunkt des Zusammenbruches beträgt das Wasserdefizit rund 12 % der zu Beginn des Versuches im Sproß vorhandenen Feuchtigkeit. Am Schluß des Versuches ist eine Abnahme des Frischgewichts um annähernd 20 % zu verzeichnen.

Innerhalb fünf Stunden erschlafft die ganze Pflanze: der Wipfel kippt nach unten, die Blattstiele senken sich, die Fiedern werden matt, dunkeln und schrumpfen. Später beginnen sich am ganzen Stengel Rillen zu bilden, die sich zusehends vertiefen, und der Sproß bricht zusammen, da der Stengel an den Blattansatzstellen einknickt.

Abb. 11. Stengelsegment mit Rillen

c) Diskussion

Beide Schleimstoffe verursachen eine im wesentlichen gleiche pathologische Veränderung des Wasserhaushaltes, sichtbar als gleichzeitige, starke Drosselung bis zu einem konstanten Wert. Nach diesem Abstieg bleibt die Transpiration gelähmt. Bei etwas größerer Wasserabgabe verlieren die Sprosse in beiden Fällen rund 20 % ihres Frischgewichts. Nach Entfernung des lädierten Stengelfußes erholen sie sich bei normalen Umweltbedingungen in Leitungswasser nicht mehr.

Die Welksymptome sind also irreversibel und wickeln sich bei beiden Beispielen in der gleichen Reihenfolge ab: Erschlaffen der Blattstiele, Dunkelfärbung der Blätter (Durchtränkung), Einknicken des Stengels an den Blattansatzstellen, tiefe Rillen.

Frage: Treten uns beim Vergleich mit Untersuchungen über die Wirkungsweise von Welkstoffen oder Antibiotika ähnlich geartete Reaktionsabläufe entgegen?

Im Licht löst eine 10^{-3} *molare Inulinlösung* ebenfalls eine starke Drosselung des Wasserhaushaltes bis auf einen Bruchteil des Anfangsbetrages sowie eine Lähmung der Transpiration aus. Bei unseren Beispielen tritt jedoch — um für einmal zur Beurteilung die Symptome beizuziehen — die selektive Affinität, die ja den Glukosanen eigen ist, nicht in Erscheinung. Hier werden vielmehr sowohl das Blattwerk als auch der Stengel lädiert und überdies charakteristische Schädigungen, die Nachgiebigkeit des Stengels an den Blattansatzstellen, hervorgerufen. Diese Eigenschaft scheinen auch nichtbakterielle Schleimstoffe zu besitzen. Herr Roland Scholl am Institut für spezielle Botanik stellte bei Welkversuchen mit Schleimstoffen aus Mistelfrüchten (*Viscum album* L.) an Tomatensprossen die gleiche Schädigung des Stengels fest.

Daß Schleimstoffe das Welken physikalisch zu induzieren vermögen, leuchtet ohne weiteres ein. Über den Chemismus der Schleimstoffe aus lindem Wein ist am agrotechnologischen Institut der E. T. H. einstweilen bekannt, daß es sich um niedermolekulare Polysaccharide handelt. Der Schleim von *Bacterium solanacearum* dürfte, da es im eiweißhaltigen Nährsubstrat Bouillon inkubiert wurde, Peptidcharakter aufweisen. Die Moleküle beider Hydrosole sind auf jeden Fall klein genug, um bis in die Intermizellarräume vorzudringen und die Transpiration zu blockieren.

Daß aber die Schleimstoffe am Stengel die gleichen morphologischen Veränderungen (Rillen) verursachen wie das Antibiotikum *Patulin*, das als

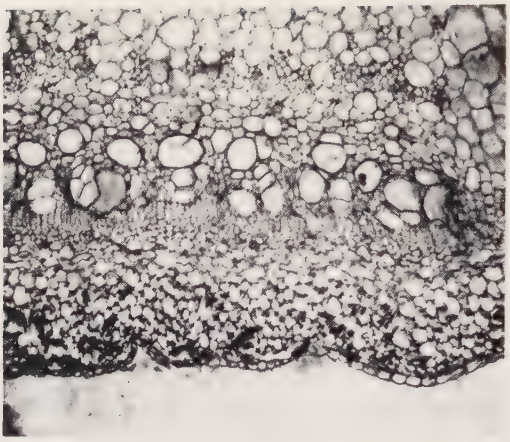


Abb. 12. Stengelquerschnitt eines gesunden Tomatensprosses. Paraffinschnitt, gefärbt mit Chrysoidin und Hämatoxylin. (Vergrößerung 1 : 75) Aufnahme Photograph. Institut ETH

heftiges Plasmagift wirkt, ist schwerer verständlich. Querschnitte durch ein lädiertes Stengelsegment zeigen ein ganz ähnliches Bild der Zerstörung, wie es MIESCHER (1950) an der mit Patulin behandelten Pflanze beobachtete.

Rund um die weitlumigsten Gefäßbündel ist das Rindenparenchym, Xylemparenchym, Phloem und Markparenchym zerstört. Die ganze Region ist bis tief ins Mark eingesunken.

Diese Erscheinung kann folgendermaßen gedeutet werden: Die Schleimmoleküle (im vorliegenden Beispiel: Polysaccharide) haben sich durch die Gefäßbündelmembranen hindurch Zugang zu den umliegenden Geweben verschafft und deren Plasma geschädigt.

Diese Schädigungen werden wohl kaum direkt durch die chemisch inerten Schleimstoffe hervorgerufen. Es ist möglich, daß durch Einwirkung pflanzlicher Enzyme auf die Schleimmoleküle toxische Verbindungen abgespaltet werden.

C. Dritte Versuchsreihe

a) 4. Fraktion

Versuchsfrage: Wie gestaltet sich der Wasserhaushalt abgeschnittener Tomatensprosse im *Dunkeln*, wenn statt Wasser dauernd eine Lösung des aus der vierten Alkoholfraktion gewonnenen Niederschlags nachgeschoben wird?

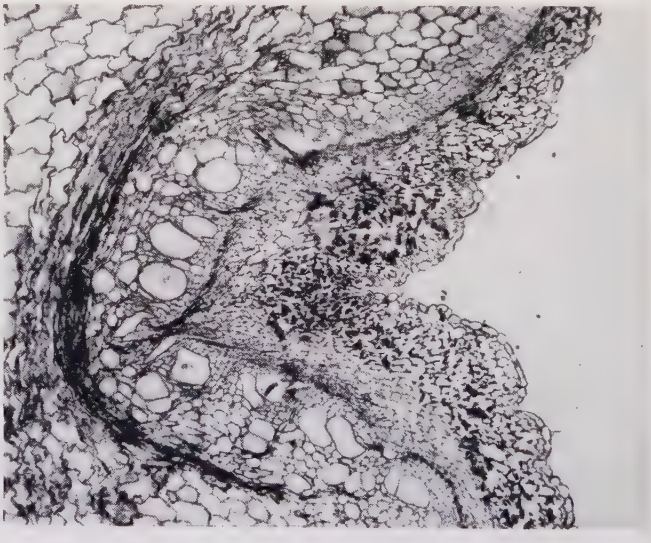


Abb. 13. Querschnitt durch einen gerillten Stengel. Paraffinschnitt, gefärbt mit Chrysoidin und Hämatoxylin. (Vergrößerung 1 : 75) Aufnahme Photographisches Institut ETH

Die Wasseraufnahme wird in den ersten zwei Stunden auf rund 60 % ge-

drosselt. Die Wasserabgabe erfährt in der gleichen Zeit eine kleine Erhöhung über den Nullpunkt hinaus; dies ist eine Zufälligkeit des Beispiels. Nachher fällt sie steil bis zur fünften Stunde; Wasserabgabe und Wasseraufnahme weisen zu diesem Zeitpunkt rund 40 % ihrer ursprünglichen Höhe

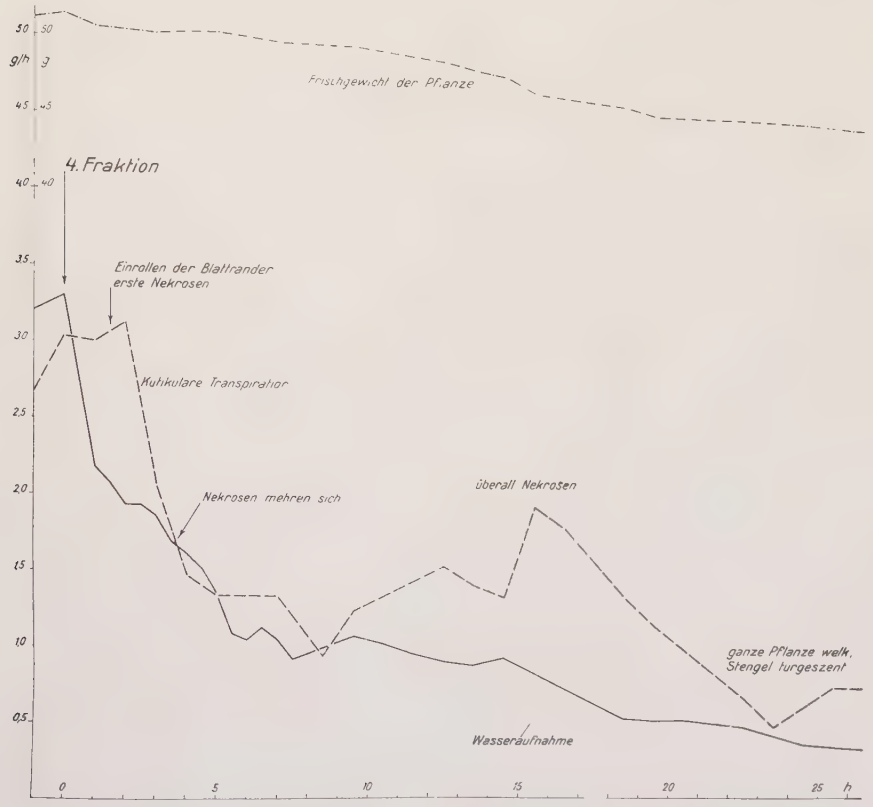


Abb. 14. Der Einfluß einer Lösung des aus der 4. Fraktion gewonnenen Niederschlags bei dauerndem Nachschub auf den Wasserhaushalt einer Tomatenpflanze im Dunkeln. Abszisse: Stunden nach Versuchsbeginn

auf und sinken bis etwa zur achten Stunde allmählich auf nahezu ein Drittel ab. Nach diesem Zeitpunkt erfolgt eine Knickung der Abgabekurve, die wieder auf rund zwei Drittel des Anfangsbetrages ansteigt, zwischen 15. und 16. Versuchsstunde nach unten umbiegt und nach 23 Stunden noch ungefähr 14 % ihres Anfangsbetrages aufweist. Die Wasseraufnahme ist unterdessen auf annähernd den gleichen Betrag gefallen. Am Ende des Versuches hat der Sproß 13 % der zu Beginn enthaltenen Feuchtigkeit verloren.

Ein bis zwei Stunden nach Versuchsbeginn rollen sich die Fiedern der jüngsten Blätter an den Rändern ein, während auf den Spreiten des untersten Blattes (bei der unpaaren Fieder beginnend) sowohl distal als auch proximal fortschreitende, glänzende Flecken sichtbar werden. Es sind dies die ersten Anzeichen von Nekrosen, welche nun immer häufiger auf-

Abb. 15. Erste Welksymptome an einem Fiederblatt nach Behandlung mit dem gelösten Niederschlag aus der 4. Fraktion. 12 Stunden nach Versuchsbeginn

treten. Die diffus über die Blattspreite verteilten nekrotischen Felder werden gelblich und schrumpfen, so daß sich die Blätter deformieren. Nach rund 24 Stunden hängen an allen Blattstielen geschrumpfte, aufgehellte Fiedern.

b) Diskussion

Da reichlichere Niederschläge nur mit großer Mühe beschafft werden können, mußte mit der zur Verfügung stehenden Menge (1,25 g aus drei Litern Inkubat) haushälterisch umgegangen werden. Es ist deshalb möglich, daß die Konzentration der Lösungen zu gering ausfiel, um einen (in bezug auf die Wasserbilanz) prägnanten Reaktionsablauf auszulösen.

Dessenungeachtet treten uns aus dem Kurvenverlauf gewisse Merkmale entgegen, die — bei gleichzeitiger Beachtung der Krankheitssymptome — an Bedeutung gewinnen.

Wichtig ist, daß am Ende des Versuches der aufrechte Sproß an aufrechten Blattstielen gewelkte Blattfiedern trägt.

Dieses Krankheitsbild wird sowohl durch *Lycomarasmin* und *Alternaria*säure als auch durch *Inulin* ausgelöst. Es liegt also zum erstenmal ein Stoffwechselprodukt von *Bacterium solanacearum* vor, das, chemisch relativ rein, eine Prädilektion für die Gewebe der *Blattspreite* aufweist. Wir glauben, hier die Komponente gefunden zu haben, die bei den ersten zwei Beispielen der ersten Versuchsreihe das Welken toxigen auslöste. Es ist nicht sicher, aber doch wahrscheinlich, daß es diese Verbindung war, die HUTCHINSON bei seinen Welkversuchen vorlag.

In diesem Zusammenhang betrachtet, kann die Drosselung des Wasserhaushaltes auf rund 30 % als Schockphase und der Wiederanstieg der Wasserabgabe als eine, wenn auch schwach ausgeprägte, Übersteigerung gedeutet werden.

5. Kapitel

Besprechung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

I. Versuche mit Tomatenblättern zeigten, daß das Kulturfiltrat der mit *Bacterium solanacearum* E. F. S., dem Erreger der tropischen Schleimkrank-

heit des Tabaks, inkubierten Bouillon welkeauslösende Stoffwechselprodukte enthält. Das Vorhandensein eines Welktoxins konnte auf diese Weise allerdings nicht festgestellt werden. Der Sporenkeimungstest *(Ustilago zeae)* verlief *negativ*.

II. Es wurde versucht, aus pathologischen Veränderungen des Wasserhaushaltes von *Solanum lycopersicum* L. den Mechanismus und somit auch den Chemismus der am Welkvorgang beteiligten Komponenten zu deuten.

Die Transpirationsversuche wurden unter *tropischen Umweltbedingungen* und im Dunkeln *(kutikulare* Transpiration) durchgeführt.

Aus den Wasserbilanzkurven war folgendes zu schließen:

a) Bei dauerndem Nachschub frischer, virulenter Bakterien wird der Welkeffekt toxigen ausgelöst.

b) Im unfiltrierten Inkubat gelangt das toxische Agens sehr ausgeprägt zur Wirkung.

c) Das auch im Kulturfiltrat ohne Zweifel enthaltene Toxin wird durch eine andere Komponente, die Schleimstoffe, überdeckt. Dabei dürfte es sich um die Summation zweier Effekte, ähnlich wie bei der Verabreichung von *Inulin + Lycomarasmin*, handeln. Die unverzügliche Wirkung der Schleimstoffe im Kulturfiltrat ist vermutlich auf den *Schütteleffekt* durch das Filtrieren zurückzuführen.

d) Durch *Fraktionierung mit Alkohol* wurden die verschiedenen Komponenten getrennt. Bei der ersten Fraktion werden die Schleimstoffe von *Bacterium solanacearum* ausgefällt, bei der vierten setzt sich ein spärlicher, aus farblosen Flittern bestehender Niederschlag. Beide wurden der Pflanze im Transpirationsversuch vorgesetzt.

1. Die Schleimstoffe von *Bacterium solanacearum* beeinflussen den Wasserhaushalt nach der Art der Glukosane, verursachen aber ein von der Glukosanwelke qualitativ stark divergierendes Krankheitsbild. Der Stengel weist tiefe Rillen auf und wird an den Blattansatzstellen nachgiebig. Der Zusammenbruch der Versuchspflanze erfolgt in kurzer Zeit.

   Zum Vergleich wurden Schleimstoffe *nichtpflanzenpathogener* Bakterien *(aus lindem Wein)* beigezogen. Der Verlauf der Wasserbilanzkurven und die Krankheitssymptome sind im wesentlichen vollkommen identisch mit dem vorhergehenden Beispiel.

   Die morphologisch-anatomischen Veränderungen des Stengels lassen darauf schließen, daß (ähnlich wie durch *Patulin)* das osmotische System der Zellen gestört wird.

2. Die Lösung des Niederschlages aus der *vierten Fraktion* löst einen Kurvenverlauf und Krankheitssymptome aus, die vermuten lassen, daß es sich um die durch Hutchinson auf demselben Weg ge-

wonnene, welkeauslösende Substanz handelt. Sie löst den Welkeeffekt toxigen aus.

III. Unsere Versuche berechtigen zur Annahme, daß es sich bei der Spontanerkrankung um einen komplexen Vorgang handelt, der durch verwickelte Kombinationen örtlich getrennter Effekte bestimmt wird. Die Auffassung, wonach die Zerstörung der Pflanze ausschließlich auf eine „Überschwemmung" durch *Bacterium solanacearum* zurückzuführen sei, trifft nur bedingt zu.

Literaturverzeichnis

BRIAN, P. W., CURTIS, P. J., HEMMING, H. G., UNWIN, C. H. and WRIGHT, J. M. 1949. Alternaric acid, a biologically active metabolic product of the fungus *Alternaria solani*. Nature, **146**, 534.

FEDER, W. A. and ARK, P. A. 1951. Wilt inducing polysaccharides derived from crown-gall, bean-blight and soft-rot bacteria. Phytopath. **41**, 804—807.

GALLEGLY, M. E., Jr, and WALKER, J. C. 1949. Relation of environmental factors to bacterial wilt of tomato. Phytopath. **39**, 936—946.

GÄUMANN, E. 1946. Pflanzliche Infektionslehre, 1. Aufl., 117, Birkhäuser, Basel.

— — und JAAG, O. 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 5, 132, 227.

— —, — — und BRAUN, R. 1947. Antibiotika als pflanzliche Plasmagifte I. Exper. **3**, 70.

— —, — —. 1950. Über das toxigene und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Zeitschr. **18**, 404—415.

— —, KERN, H. und SAUTHOFF, W. 1952. Untersuchungen über zwei Welketoxine. Phytopath. Zeitschr. **16**, 226—255.

HODGSON, R. A., RIKER, A. J. and PETERSON, W. H. 1947. A wilt-inducing toxic substance from crown-gall bacteria. Phytopath. **37**, 301—318.

HUTCHINSON, C. M. 1913. Rangpur tobacco wilt. India Dept. Agr. Mem., Bact. Ser. **1**, 67—83.

KRUEGER, A. P. and ALSBERG, C. L. 1924. A metabolic study of *Bacterium solanacearum* E. F. S. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **21**, 534.

MARTIN, L. 1948. Beitrag zur Kenntnis der linden Weine. Diss. ETH., Verl. Neographik, Zürich.

MIESCHER, G. 1950. Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen. Phytopath. Zeitschr. **16**, 369—396.

MUSHIN, R. 1938. Food requirements of bacteria. Austr. Journ. Exp. Biol. and Med. **16**, 323—334.

PLATTNER, P. und CLAUSON-KAAS, N. 1945. Über Lycomarasmin, den Welkstoff aus *Fusarium lycopersici* Sacc. Exper. **1**, 195.

ROSEN, H. R. 1926. Efforts to determine the means by which the cotton-wilt fungus, *Fusarium lycopersici* Sacc. Exper. **1**, 195.

SMITH, E. F. 1914. Bacteria in relation to plant diseases. Vol. III., 191—192.

VAUGHAN, E. K. 1944. Bacterial wilt of tomato caused by *Phytomonas solanacearum*. Phytopath. **34**, 443—458.

Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode

Über die Möglichkeit einer Virulenzänderung des Kartoffel-X-Virus

Von

R. Bercks

Einleitung

In einer früheren Veröffentlichung (1) wurde mitgeteilt, daß der seit vielen Jahren auf Tabak kultivierte Köhlersche Stamm Cs 35 des Kartoffel-X-Virus im Jahre 1948 bei Infektionsversuchen an der Kartoffelsorte Flava versagte. Diese Beobachtung konnte im Jahre 1949 (2, 3) nicht nur für die eben genannte, sondern auch für eine Reihe weiterer Sorten bestätigt werden. Die Infektionen gelangen dagegen mit einem X-Virus (bzw. X-Population) aus einer kranken Flava-Pflanze ohne weiteres. Gleichzeitig gab Matthews (8) bekannt, daß er bei Stämmen des Kartoffel-X-Virus, die auf Tabak kultiviert worden waren, einen teilweisen bis völligen Verlust des Infektionsvermögens gegenüber Kartoffeln feststellen konnte. Der Grad dieses Verlustes richtete sich nach der Zahl der Tabakpassagen und, damit verbunden, der Zeitdauer der Tabakkultur. Diese Feststellungen waren die Veranlassung zu eigenen weiteren Untersuchungen.

Experimenteller Teil

Zunächst interessierte, ob auch andere seit Jahren auf Tabak kultivierte X-Stämme sich ebenso oder ähnlich wie Cs 35 verhielten. Aus diesem Grunde wurden die Köhlerschen Stämme Cs A, H19m, Us v und Bm an den beiden Kartoffelsorten Flava und Capella geprüft, die gegen einzelne X-Viren bzw. X-Virus-Herkünfte teilweise unterschiedlich reagieren (3, 4).

Die Kartoffeln wurden zu diesem Zweck im Frühjahr 1951 im Freiland ausgelegt und wie bei allen anderen Versuchen im Jugendstadium bei einer Pflanzengröße von etwa 10 cm künstlich infiziert. Die Beimpfung erfolgte unter Zuhilfenahme von Karborund an drei Blättern eines Triebes durch

Einreiben mit 1 : 10 verdünntem Preßsaft einer kranken Tabakpflanze. Jede Infektion wurde an 20 Parallelen durchgeführt. Die spätere Untersuchung der Pflanzen erfolgte nach der serologischen Blättchenmethode.

Zum Vergleich mit den „Tabak"-Stämmen wurden je fünf Pflanzen beider Sorten auch mit Preßsaft einer X-kranken Flava-Pflanze beimpft. Diese Kontroll-Pflanzen ergaben, wie nach den bisherigen Erfahrungen erwartet, durchweg eine völlige Verseuchung sowohl der künstlich infizierten als auch der übrigen Triebe.

Die Versuche mit der Sorte Flava hatten folgendes, in Tabelle 1 zusammengefaßtes, Ergebnis:

Tabelle 1

Infektion der Sorte Flava mit „Tabak"-Stämmen

Stamm	beimpfte Pflanzen	völlig gesund	nur beimpfte Blätter erkrankt	teilweise erkrankt[1])
Cs A	20	9	3	8
H19m	20	5	7	8
Us v	20	8	6	6
Bm	20	13	7	0

[1]) teilweise erkrankt = an einigen unbeimpften Blättern der künstlich infizierten Triebe sowie teilweise an nicht beimpften Trieben erkrankt. Näheres im Text.

1. Stamm Cs A

Die Infektionen verliefen in neun Fällen völlig negativ. Drei Pflanzen zeigten nur in den beimpften Blättern Virus. Die übrigen acht Stauden ließen auch bei einem Teil der nichteingeriebenen Blätter des künstlich infizierten Sprosses eine Verseuchung erkennen. Von diesen Pflanzen wurden vier hinsichtlich der unbeimpften Triebe untersucht. Dabei erwiesen sich von 20 geprüften Sprossen acht als krank.

2. Stamm H19m

Bei fünf Stauden trat keinerlei Infektion ein, bei sieben weiteren nur an den eingeriebenen Blättern. Von den restlichen acht erkrankten Stauden wurden nur bei zweien auch die unbeimpften Triebe geprüft, sie gaben keine Virus-Reaktionen.

3. Stamm Us v

Acht Pflanzen blieben gänzlich gesund, sechs reagierten nur mit den eingeriebenen Blättern positiv. Von den weiteren sechs erkrankten Pflanzen wurden bei fünf auch nichtbeimpfte Triebe untersucht. Fünf von 25 Sprossen zeigten positive Resultate.

4. Stamm Bm

Das Ergebnis war noch extremer als bei den schon genannten Stämmen. 13 Pflanzen ließen keinen Virus-Befall erkennen, die übrigen sieben nur an künstlich infizierten Blättern.

Die Prüfungen an der Sorte Capella verliefen für alle vier X-Stämme einheitlich. Weder in einem eingeriebenen noch einem anderen Blatt des beimpften Triebes wurde Virus festgestellt.

Für einen weiteren Versuch (s. auch Tab. 2 und 3) war im März 1950 eine X-Virus-Herkunft aus kranker Flava auf Tabak übertragen worden. Mit der 3. bzw. 4. Tabakpassage-Kultur wurden im Sommer 1950, ungefähr drei Monate nach der ersten Übertragung, je 20 Flava- und Capella-Pflanzen infiziert. Die Beimpfung beider Sorten erfolgte an je zehn Pflanzen mit konzentriertem und 1 : 10 verdünntem Preßsaft. Bei Flava reagierten alle Blätter der mit konzentriertem Preßsaft infizierten Triebe positiv, während von 29 untersuchten unbeimpften Trieben 27 Reaktionen gaben. Die mit verdünntem Preßsaft eingeriebenen Sprosse erkrankten ebenfalls sämtlich. Von 30 unbeimpften Trieben dieser Pflanzen waren 24 verseucht.

Die Sorte Capella erkrankte nach Beimpfung mit konzentriertem Preßsaft an acht künstlich infizierten Trieben und an sieben von 35 nichtbeimpften Sprossen. Der 1 : 10 verdünnte Preßsaft bewirkte in neun Fällen eine Virusinfektion der beimpften Triebe. Von den 39 nichtbeimpften Sprossen erkrankten 13.

Im Jahre 1951 wurde das Virus nach zwölf Tabakpassagen innerhalb von 15 Monaten auf 20 Freilandstauden von Flava und 19 von Capella gebracht. Da die Infektion am gleichen Tage wie die mit den Köhlerschen Stämmen durchgeführt wurde, konnten die bereits erwähnten Abreibungen von einer kranken Kartoffelpflanze auch für diesen Versuch als Kontrolle dienen. Als Ergebnis zeigte sich, daß bei der Sorte Flava elf Infektionen nicht angegangen waren, in einem Fall das Virus nur in einem eingeriebenen Blatt angetroffen wurde und bei acht Stauden auch andere Blätter des beimpften Triebes positiv reagierten. Von diesen letzten acht Pflanzen wurden bei fünf Exemplaren wiederum je fünf unbeimpfte Sprosse geprüft. Jede dieser Pflanzen war zumindest an einem dieser Triebe erkrankt; im ganzen zeigten neun von 25 eine Virusverseuchung.

Von den 19 Parallelen der Sorte Capella blieben sechs gesund, eine erkrankte nur an einem eingeriebenen Blatt, während die restlichen zwölf Pflanzen auch an anderen Blättern des beimpften Triebes erkrankten. Von allen Stauden wurden sämtliche Sprosse untersucht. Diese Prüfung ergab für diejenigen Stauden, bei denen auch unbeimpfte Blätter Virus erkennen ließen, in den meisten Fällen, daß die übrigen Triebe gesund waren, und zwar gaben von insgesamt 71 nur 16 positive Reaktionen.

Der Versuch wurde im Jahre 1952, 27 Monate nach der Übertragung auf Tabak, mit der 19. Passage-Kultur des Virus fortgesetzt. Dabei fanden je zehn Parallelen beider Kartoffelsorten Verwendung. Zur Kontrolle wurden je zehn weitere Pflanzen mit X-Virus aus kranker Flava eingerieben. Diese Kontrollen erkrankten wiederum an den beimpften und allen übrigen Trieben. Die „Tabak"-Kultur ergab dagegen nur bei vier Flava-Pflanzen, und zwar nur an eingeriebenen Blättern, einige positive Reaktionen, d. h. selbst anfangs haftende Infektionen konnten sich in den beimpften und unbeimpften Trieben, die sämtlich untersucht wurden, nicht weiter durchsetzen.

Die Sorte Capella blieb nach der Infektion mit dieser „Tabak"-Kultur völlig virusfrei. In keinem Blatt der beimpften Triebe, auf die wir uns in diesem Fall beschränken konnten, wurde Virus festgestellt.

Tabelle 2

Infektion der Sorte Flava mit Tabak-Passage-Kulturen von Flava-X

	beimpfte Triebe	untersuchte nichtbeimpfte Triebe
3. Passage-Kultur		
a) konzentrierter Preßsaft	10/10[1])	27/30
b) 1 : 10 verdünnter Preßsaft	10/10	24/30
12. Passage-Kultur	8/20	9/25
19. Passage-Kultur	0/10	0/49

[1]) d. h. von zehn Trieben waren zehn verseucht.

Tabelle 3

Infektion der Sorte Capella mit Tabak-Passage-Kulturen von Flava-X

	beimpfte Triebe	untersuchte nichtbeimpfte Triebe
4. Passage-Kultur		
a) konzentrierter Preßsaft	8/10	7/55
b) 1 : 10 verdünnter Preßsaft	9/10	13/39
12. Passage-Kultur	12/19	16/71
19. Passage-Kultur	0/10	—

Aus schon früher (4) mitgeteilten Untersuchungen war bekannt, daß X-Virus aus den Sorten Direktor Johanssen und Kaiserkrone bei Blatteinreibungen die Sorte Capella nicht, wohl aber Flava zu infizieren vermag. Es war aber nicht bekannt, ob diese Viren vielleicht auf dem Umwege über für sie anfällige, auch andere Sorten befallen, die sie nicht direkt infizieren

können. Wir machten deshalb im Jahre 1951 Infektionsversuche an je 20 Capella-Stauden mit Preßsaft von Flava-Pflanzen, die im Jahr zuvor mit X-Virus aus Direktor Johanssen bzw. Kaiserkrone infiziert worden waren. Zur Kontrolle wurde wiederum ein anderer Teil mit X-Virus aus kranker Flava (Flava-X) eingerieben. Als Ergebnis zeigte sich, daß wohl die Kontrollen, aber nicht die übrigen Pflanzen befallen wurden. Die Viren ließen sich in keinem der beimpften Triebe nachweisen, so daß sich eine weitere Prüfung der ganzen Pflanzen erübrigte.

Besprechung

Nach den vorstehend mitgeteilten Ergebnissen ist kein Zweifel mehr möglich, daß längere Zeit auf Tabak kultivierte X-Viren sich zumindest bei Infektionsversuchen nach der Einreibe-Methode anders verhalten können als solche, die unmittelbar von Kartoffelpflanzen gewonnen werden. Damit finden die eigenen früheren Befunde wie auch die Angaben von MATTHEWS eine Bestätigung. Selbstverständlich kann nicht gesagt werden, ob bei längerer Tabakkultur sämtliche X-Virusstämme ihr Infektionsvermögen gegenüber Kartoffeln verlieren oder auch nur stark einschränken; mit der Möglichkeit ist aber offenbar in jedem Fall zu rechnen, wobei sich einzelne Kartoffelsorten vielleicht auch unterschiedlich verhalten.

Gegen diese Folgerungen könnte hinsichtlich der im experimentellen Teil an erster Stelle aufgeführten Versuche mit verschiedenen X-Stämmen unter Umständen eingewendet werden, daß vielleicht die für die Kontrollinfektion verwendete X-Virus-Herkunft aus der Sorte Flava besonders virulent und dadurch der große Unterschied gegenüber den „Tabak"-Stämmen zustande gekommen sei. Es ist aber schon früher in einzelnen Fällen wie auch neuerdings in noch unveröffentlichten Untersuchungen mit X-Virus-Herkünften aus einer Reihe anderer Kartoffelsorten festgestellt worden, daß das Virus aus der Sorte Flava keine Sonderstellung einnimmt und seine Verwendung für die Kontrollversuche gerechtfertigt war. Andererseits sind die Infektionsversuche mit den KÖHLERschen Stämmen bei Capella nicht unbedingt in jedem Falle beweisend, da nicht feststeht, ob die ursprünglichen, von der Kartoffel gewonnenen Viren diese Sorte zu infizieren vermochten. Der Stamm Bm wurde von KÖHLER z. B. aus Erstling isoliert (6), und es ist schon früher gezeigt worden, daß das Erstlings-X auch bei der direkten Übertragung von Kartoffel zu Kartoffel Capella nicht krank macht (2, 3). Immerhin ist es unwahrscheinlich, daß alle vier Viren von vornherein für diese Sorte nicht infektiös waren. Für Flava gelten diese Bedenken nicht, weil sie auch von den Stämmen befallen wird, die Capella nicht angreifen.

In früheren Jahren ist das Auftreten von veränderten Symptomen nach Passagen über Wirtspflanzen, in denen ein zu untersuchendes Virus normalerweise nicht anzutreffen ist, oft mit einer Mutation des betreffenden

Virus erklärt worden. In neuerer Zeit ist man mit dieser Deutung vorsichtiger geworden. Es besteht in solchen Fällen durchaus die Möglichkeit, daß das Ausgangsmaterial aus einem Gemisch verschiedener Stämme besteht und gewisse Wirte als „Filter" wirken, die nur die Vermehrung der einen oder andern Komponente zulassen. Es würde sich danach also nicht um eine Mutation, sondern nur um eine Selektion handeln. So zeigte JOHNSON (5), daß es sich bei der scheinbaren Abschwächung des Tabakmosaikvirus zu milden Stämmen nach Passage über *Eryngium aquaticum* in Wahrheit nur um eine Selektion handelte. MELCHERS (9) hat im Anschluß an diese Versuche die Frage aufgeworfen, ob es überhaupt Hinweise oder sogar Beweise für eine Abschwächung im eigentlichen Sinne gibt. Die Ergebnisse mit dem ursprünglich aus kranker Flava gewonnenen und auf Tabak kultivierten Virus wie auch jene von MATTHEWS müssen als Hinweise auf eine Abschwächung, die als eine Mutation angesehen wird, gewertet werden. Es fragt sich nur, wo und unter welchen Bedingungen die für Kartoffel nicht mehr infektiöse Mutante entstanden ist. Die eine Möglichkeit wäre die, daß die Veränderung schon auf der Kartoffelpflanze eingetreten ist. Eine solche Mutation müßte derart gewesen sein, daß sich die von ihr betroffenen Virusmoleküle in der Kartoffel nicht mehr vermehren konnten, zumindest aber ihr Infektionsvermögen für ihren ursprünglichen Wirt, nicht dagegen für Tabak, verloren hätten. Weiterhin wäre anzunehmen, daß bei der Gewinnung des für die Infektion der Tabakpflanzen benutzten Kartoffelpreßsaftes neben unveränderten Molekülen auch die mutierten erfaßt worden wären. Die Mutanten müßten dann auf dem Tabak allmählich das ursprünglich in der Kartoffel vorhandene Virus verdrängt haben, so daß nach der 19. Tabakpassage eine Infektion von Kartoffeln nicht mehr gelang. Dieser Erklärungsversuch erscheint wenig einleuchtend. Wenn man schon voraussetzt, daß auf der Kartoffel eine für sie nichtinfektiöse Mutante entstanden ist, so wäre doch anzunehmen, daß letztere nicht in sehr großer Menge auftritt, und es wäre merkwürdig, wenn nicht nur bei den eigenen, sondern auch bei den Versuchen von MATTHEWS diese veränderten Viren zufällig in dem zur Abreibung auf Tabak benutzten Preßsaft vorhanden gewesen wären. Weitaus wahrscheinlicher ist es, daß die Mutation im Tabak entstanden ist. Unter dieser Voraussetzung tritt die Frage auf, ob die Veränderung des Virus zufällig aufgetreten oder durch das Substrat induziert ist. Die zweite Möglichkeit ist, wie schon früher betont (1), nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen; zu beweisen wäre sie nur durch chemische Untersuchungen. Auf jeden Fall zeigen auch die vorliegenden Ergebnisse, daß die auf Tabak kultivierten X-Viren nicht ohne entsprechende Einschränkung mit den auf Kartoffeln vorkommenden verglichen oder gar gleichgesetzt werden dürfen. Im Jahre 1951 haben KÖHLER und ROSS (7) aus ihren Versuchen geschlossen, daß längere Zeit auf Tabak gezogene X-Stämme bei der Zufuhr durch Pfropfung in Kartoffeln die gleichen Re-

aktionen hervorrufen wie direkt aus kranken Kartoffeln gewonnene Viren. Anscheinend können sich also „Tabak"-Stämme bei einer anhaltenden massiven Infektion, wie sie bei der Pfropfung gegeben ist, anders verhalten als bei einem Infektionsversuch nach der Blatteinreibemethode. Da die letztere den natürlichen Infektionsbedingungen hinsichtlich der Virusdosierung ohne Zweifel weit mehr entspricht als die Pfropfmethode, fragt es sich, wie weit die im Pfropfversuch erhaltenen Ergebnisse tatsächlich im einzelnen den Verhältnissen in der Natur entsprechen.

Der im experimentellen Teil an letzter Stelle aufgeführte Versuch mit den ursprünglich aus Direktor Johanssen bzw. Kaiserkrone stammenden und in der Sorte Flava vermehrten Viren zeigt, daß diese Stämme bei einjährigem Aufenthalt in einer für sie anfälligen Sorte noch keine Gefahr für Capella darstellen. Selbst wenn sich andere Sorten ebenso verhalten, ist aber doch zu bedenken, daß die Viren möglicherweise erst nach längerem Aufenthalt bzw. nach mehreren Passagen ihre Virulenz verändern und dann auch auf solche Sorten übergehen, die sie an sich nicht zu befallen vermögen. Andererseits können vielleicht irgendwelche Sorten schon in kürzerer Zeit als Brückenwirte dienen. Eine Klärung dieser Frage soll in weiteren Versuchen angestrebt werden.

Zusammenfassung

1. Vier seit vielen Jahren auf Tabak kultivierte Stämme des Kartoffel-X-Virus zeigten gegenüber Kartoffeln nur noch ein sehr herabgesetztes Infektionsvermögen. Damit werden frühere Beobachtungen an dem Stamm Cs 35 grundsätzlich bestätigt.

2. Eine X-Virus-Herkunft aus der Sorte F l a v a verlor nach zwölf Tabakpassagen einen großen Teil ihrer Infektionskraft gegenüber Kartoffeln. Nach 19 Passagen war der Verlust vollständig.

3. Mit den X-Viren aus den Trägersorten Direktor Johanssen und Kaiserkrone, welche die Kartoffelsorte C a p e l l a nicht zu infizieren vermögen, gelang diese Infektion auch nach einjährigem Aufenthalt in der Sorte Flava nicht.

4. Die vorstehenden Befunde werden diskutiert.

Literaturverzeichnis

1. Bercks, R. Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelsorten. Phytopath. Zeitschr. **16**, 1949/50, 71—85.

2. — —. Über das Verhalten verschiedener X-Virusherkünfte bei Infektionsversuchen an mehreren Kartoffelsorten. Nachrichtenbl. Biol. Zentralanstalt Braunschweig **1**, 1949, 171—173.

3. — —. Infektionsversuche mit verschiedenen X-Virusherkünften an mehreren Kartoffelsorten. Züchter **20**, 1950, 282—287.

4. — —. Weitere Untersuchungen zur Frage der Altersresistenz der Kartoffelpflanzen gegen das X-Virus. Phytopath. Zeitschr. **18**, 1951, 249—269.

5. Johnson, J. Virus alternation and the separation of strains by specific hosts. Phytopath. **37**, 1947, 822—837.

6. Köhler, E. Über die XE-Gruppe des Kartoffel-X-Virus. Zentralbl. f. Bakt. II, **101**, 1939, 29—40.

7. — — und Ross, H. Das Verhalten deutscher Kartoffelsorten gegenüber verschiedenen Stämmen des X-Virus im Pfropfversuch. Züchter **21**, 1951, 179—185.

8. Matthews, R. E. F. Studies on potato virus X. I. Types of change in potato virus X infections. Ann. appl. Biol. **36**, 1949, 448—459.

9. Melchers, G. Einige Probleme der Virusforschung. Ber. Deutsch. Bot. Ges. **63**, Generalversammlungsheft 1951, (19—23).

Aus dem Pflanzenschutzamt, Kassel-Harleshausen
Leiter: Gartenbaurat H. Zimmermann

Über die Y-Virus-Verseuchung der Knollen primär infizierter Kartoffelpflanzen

Von
O. Marcus

Mit 3 Abbildungen

Einleitung

Die Ausbreitung und Verteilung pflanzenpathogener Viren in der Wirtspflanze ist schon mehrfach Gegenstand von Untersuchungen gewesen. Die meisten Autoren prüften diese Frage am Tabak als Versuchspflanze oder begnügten sich mit der Untersuchung von Kartoffellaub. Nur verhältnismäßig wenige befaßten sich mit dem Eindringen des Virus in die Kartoffelknolle. Dabei bedingt eine vollständige Durchseuchung des Laubes durchaus nicht das gleiche bei den Knollen. Es ist zwar hinlänglich bekannt, daß der Nachbau sekundär kranker, d. h. von der Knolle her infizierter Kartoffelpflanzen weitgehend virusverseucht ist. Wir wissen aber auch, daß eine Virusinfektion die Kartoffelpflanze im ersten Jahre oft nur unvollständig durchdringt. Selbst bei Kartoffelsorten, die als Virusträger gelten und mit einem Virus nahezu 100 %ig durchseucht sind, finden sich gelegentlich virusfreie Knollen. Auch beobachtet man im Feldbestand bei abgebauten Herkünften nicht allzu selten Kartoffelpflanzen, an denen ein oder zwei Triebe deutliche Strichelsymptome erkennen lassen, während die restlichen Stengel vollständig gesund aussehen. Über den Grad der Virusverseuchung, insbesondere der Knollen primärinfizierter Kartoffelpflanzen, ist bisher aber nur verhältnismäßig wenig bekanntgeworden. Eine genaue Kenntnis dieser Verhältnisse wäre aber für viele praktische Fragen von nicht geringer Bedeutung.

Zwar liegen Untersuchungen von Bercks (2) vor, der zeigen konnte, daß sich einige von ihm geprüfte Kartoffelsorten hinsichtlich der Virusverseuchung der Knollen ganz unterschiedlich gegen X-Virusstämme verschiedener Herkunft verhielten. Auch Köhler und Heinze (4) fanden bei den Sorten „Stärkereiche“ und „Bodenkraft“ eine unterschiedliche Durchdringung der Pflanzen bei Primärinfektionen mit Y-Virus. Sie weisen auch darauf hin, „daß sich die Knollen der gleichen Einzelpflanze in der Mehrzahl zwar übereinstimmend, aber doch zu einem erheblichen Teil verschieden verhielten“. Diese letzteren Befunde erstrecken sich jedoch nur auf einige wenige Knollen

von jeder Staude. Es sollte daher einmal der Versuch unternommen werden, Aufschluß über den Verseuchungsgrad des gesamten Knollenbehanges primär mit Y-Virus infizierter Kartoffelstauden zu erlangen.

Material und Methode

Da die einzelnen Kartoffelsorten in ihrer Resistenz gegen Y-Virus deutliche Unterschiede zeigen (5), lag es nahe, zunächst das Verhalten des Y-Virus unter günstigen Bedingungen, d. h. in einer anfälligen Sorte zu prüfen, denn hier war der stärkste Verseuchungsgrad schon im ersten Jahre zu erwarten. Aus diesem Grunde wurde die Sorte „Ackersegen" gewählt, die sich als stark Y-anfällig erwiesen hatte (5). Um möglichst einheitliches und gleichaltriges Pflanzenmaterial zu erhalten, wurde eine größere Anzahl von Knollen einer Hochzucht-Herkunft der genannten Sorte ausgewählt, deren Augenstecklinge sich bei der Herkunftsprüfung als „gesund" erwiesen hatten, also weder X-, Y- noch A- oder Blattrollvirus enthielten. Diese Knollen wurden erneut in feuchten Sand zum Keimen ausgelegt. Am 28. Mai 1951 waren genügend gut bewurzelte Keime herangewachsen, so daß sie jetzt von der Mutterknolle getrennt und einzeln in Mitscherlichgefäße mit Komposterde, der ein wenig Sand beigemengt war, eingepflanzt werden konnten. Als Impfmaterial diente ein Y-Virus-Stamm, der von Kartoffel isoliert und von dem ein Teil auf Kartoffel, der andere auf Tabak weitergezogen worden war (zweite Tabakpassage); sie werden in der Folge kurz als Kartoffel-Y und Tabak-Y bezeichnet. Am 4. Juni 1951 hatten die Pflanzen bereits fünf bis sechs Blätter gebildet. An diesem Tage wurden 60 möglichst gleich große, gut entwickelte Pflanzen aus der Anzucht ausgewählt und am Abend des gleichen Tages zwei Gruppen von je vier Pflanzen beimpft (Endfiedern der zweiten und dritten Blätter). Die eine der beiden Gruppen wurde mit Kartoffel-Y beimpft, die andere mit Tabak-Y. Weitere Abimpfungen folgten in der gleichen Weise am 15. Juni, 11. Juli und 13. August 1951.

Um gleichzeitig die Verhältnisse im Freiland zu studieren, wurden am 16. Juni 1951 zwei Gruppen zu je vier Pflanzen „Ackersegen-Hochzucht" im Bestand auf dem Versuchsfeld mit Kartoffel-Y und Tabak-Y geimpft, und zwar wurde die Infektion jeweils an einem Trieb der Staude an zwei Endfiederblättchen vorgenommen. Um der Besiedlung der Stauden mit Blattläusen vorzubeugen, wurden alle Feldpflanzen während der Vegetationsperiode in Abständen von acht bis zehn Tagen mit einem Hexamittel bestäubt. Trotz häufiger Kontrolle der Stauden konnte keine Ansiedlung von Blattläusen beobachtet werden. Nur gelegentlich wurden ganz vereinzelt ein paar tote Aphiden gefunden.

Bei jeder Serie blieben zwei Kartoffelpflanzen als Kontrolle ungeimpft. Außerdem wurden bei jeder Serie zur Kontrolle der verwandten Preßsäfte jeweils zwei Tabakpflanzen Samsun Bashi Bagli beimpft.

Nachdem die Pflanzen abgestorben waren, erfolgte Ende September 1951 die Ernte der Knollen. Dabei wurde von jeder Knolle nach Möglichkeit

der genaue Ursprung am Stengel festgestellt und in Lageskizzen festgehalten, wie die Abbildungen 1 bis 3 zeigen. Bei den Freilandpflanzen erforderte dies besondere Vorsicht bei der Ernte und war nicht immer leicht durchführbar, zumal hier auch auf die Verbindung der einzelnen Triebe untereinander geachtet werden mußte. Die Knollen wurden durch Numerierung gekennzeichnet und später bei den Topfpflanzen jedes einzelne Auge der Knollen, bei den Freilandpflanzen von jeder Knolle zwei Augen, im Augenstecklingstest geprüft. Der serologische Test wurde nur vereinzelt angewandt, da nur eine geringe Menge Serumblättchen zur Verfügung stand und sich auch herausgestellt hatte, daß bei Y-Virus die Ausbildung der typischen Krankheitssymptome am Augensteckling der serologischen Nachweismöglichkeit um Wochen vorauseilt.

Ergebnisse:

a) Topfversuche

Serie I

Zwischen den am 4. Juni mit Tabak-Y und Kartoffel-Y beimpften Gruppen traten in der Folgezeit bald deutliche Unterschiede zutage. Die fünften und höheren Blätter aller vier mit Tabak-Y beimpften Pflanzen begannen bald zu kräuseln und deutliches bis starkes Mosaik auszubilden; am 18. Juni traten zahlreiche Strichelnekrosen an der Unterseite der Blätter auf. Von den beimpften zweiten und dritten Blättern war überall das zweite Blatt ganz, vom dritten Blatt die Endfieder abgestorben. Dagegen waren die Symptome bei der Kartoffel-Y-Gruppe am 18. Juni noch gar nicht oder nur sehr schwach ausgebildet. Strichelnekrosen traten erst ganz vereinzelt an einigen wenigen Blattfiedern auf. Nur bei einer Pflanze war die infizierte Endfieder des dritten Blattes abgestorben; bei den anderen waren auch die abgeriebenen Blätter noch grün und abgesehen von vereinzelten kleinen Stricheln intakt. Am gleichen Tage wurde auch serologisch geprüft. Von allen deutlich strichelkranken Pflanzen beider Gruppen wurde je eine Blattfieder mit Strichelsymptomen entnommen und beide Gruppen getrennt untersucht. Beide Prüfungen erbrachten negative Ergebnisse, wiewohl die Preßsäfte der beiden Tabakkontrollen ziemlich stark positiv (+++) reagierten. Nebenbei sei erwähnt, daß Kartoffel-Y auf der Tabakkontrolle stärkere Symptome hervorbrachte als Tabak-Y; in der Stärke der serologischen Reaktion bestand jedoch zwischen beiden Tabakpflanzen kein Unterschied. — Am 25. Juni hatten sich die Differenzen zwischen beiden Gruppen in der Symptomausbildung eher noch verstärkt als abgeschwächt. Gegenüber den gesunden Kontrollen besaßen die Y-infizierten Pflanzen im ganzen kräftigere Blattachseltriebe. Bei Tabak-Y waren sie etwas stärker als bei Kartoffel-Y, wodurch sich letztere in ihrem Wuchs mehr dem Typ der gesunden Kontrollen näherten.

Am 13. Juli hatten sich die Unterschiede im Symptombild zwischen beiden Gruppen etwas ausgeglichen, in der Weise, daß nun auch die Kartoffel-Y-Pflanzen stärkere Symptome aufwiesen als früher. Erst jetzt reagierten einige Pflanzen beider Gruppen serologisch schwach positiv (+). — Am

9. August waren alle Pflanzen in beiden Gruppen bis auf den obersten Blätterschopf abgestorben, und am 28. August war das Kraut endgültig dürr.

Das Ergebnis der Augenstecklingsprüfung war nach den Erfahrungen am Kartoffellaub etwas überraschend (Tab. 1 I T.K.). Es zeigte sich, daß Kartoffel-Y seine Wirtspflanzen vollständig durchseucht hatte, wiewohl es im Kraut nur langsam vorwärtszukommen schien. Sämtliche Augen aller Knollen ergaben strichelkranke Augenstecklinge.

Tabak-Y dagegen konnte nur einen Teil der Knollen vollständig durchdringen, der andere Teil zeigte solche mit Y-kranken und gesunden Augen. Die virusfrei gebliebenen Augen verteilten sich auf Kronen- und Nabelenden der Knollen, die dazwischenliegenden Augen waren alle infiziert (Tab. 2). Eine Beziehung zwischen Zahl und Lage der gesunden Augen an der Knolle und dem Ansatzpunkt des zugehörigen Stolons am Stengel konnte dagegen nicht aufgefunden werden. Mehr als ein Auge war an keiner Knolle virusfrei geblieben.

Serie II

In der am 15. Juni beimpften Serie verhielten sich Tabak-Y und Kartoffel-Y wie in der ersten Serie vom 4. Juni. Doch traten die ersten Strichelsymptome an den abgeriebenen Blättern schon nach etwa acht Tagen, also am 23. Juni, auf. Wieder zeigten zu diesem Zeitpunkt alle vier Pflanzen der Tabakgruppe die weitaus stärkeren und zahlreicheren Symptome, zunächst nur an den End- und Seitenfiedern der beiden abgeriebenen Blätter, während Kartoffel-Y nur an einer Pflanze am Orte der Infektion (Endfieder) eine schwache Strichelnekrose hervorgerufen hatte. Auch in der weiteren Entwicklung behielten die Pflanzen der Tabak-Y-Gruppe die bei weitem schwersten Krankheitssymptome, während die Kartoffel-Y-Gruppe nur verhältnismäßig schwache Symptome aufwies. Eine Pflanze dieser Gruppe blieb überhaupt nahezu symptomlos, und doch erwies sich später ihr Nachbau als 100 %ig Y-Virus-versucht (Tab. 1, II, K 4). Die Augenstecklingsprüfung (vgl. Tab. 1, II, T u. K) zeigte, daß sich hier Tabak-Y wesentlich besser durchsetzen konnte als in der vorhergehenden Serie. Bei 90 % der Knollen lieferten alle Augen Y-kranke Pflanzen, während die restlichen Knollen Y-infizierte und gesunde Augen besaßen. Mehr als zwei gesunde Augen wurden an keiner Knolle festgestellt. Kartoffel-Y hatte wiederum alle vier Pflanzen und deren Knollen 100 %ig verseucht. Die virusfreien Augen verteilten sich, wie die Tabelle 2 ausweist, auch hier auf Kronen- und Nabelende, und nur die Augen in der Mitte erwiesen sich 100 %ig verseucht.

Serie III

Als die dritte Serie am 11. Juli in gleicher Weise wie die beiden vorhergehenden infiziert wurde, standen die Versuchspflanzen kurz vor der Blüte. Die Ausbildung von Strichelsymptomen ließ diesmal bei beiden Gruppen ziemlich lange auf sich warten. Erst am 9. August, nach fast vier Wochen, wurden in der Tabak-Y-Gruppe auf den Blattfiedern vereinzelte Strichel beobachtet. Die Pflanzen der Kartoffel-Y-Gruppe zeigten noch keinerlei

Tabelle 1 Topfversuche
Zahl der Knollen je Pflanze mit virusinfizierten (+) und virusfreien Augen (—)

Tabak-Y						Kartoffel-Y					
	Knollen mit:						Knollen mit:				
Pflanze Nr.	nur + Augen	+ u. — Augen	nur — Augen	zusammen	Ausfall	Pflanze Nr.	nur + Augen	+ u. — Augen	nur — Augen	zusammen	Ausfall
Serie I Abreibung: 4. 6. 51 (18 Tage alte Pflanzen)											
T. 1	3	1	0	4		K. 1	8	0	0	8	
2	1	0	0	3	2	2	2	0	0	2	
3	1	1	0	2		3	2	0	0	2	
4	3	0	0	3		4	3	0	0	3	
Summe	8	2	0	12	2		15	0	0	15	
%	66	17	0	100	17	%	100	0	0	100	
Serie II Abreibung: 15. 6. 51 (29 Tage alte Pflanzen)											
T. 1	2	1	0	3		K. 1	4	0	0	4	
2	6	1	0	7		2	6	0	0	6	
3	6	0	0	6		3	5	0	0	5	
4	4	0	0	4		4	7	0	0	7	
Summe	18	2	0	20			22	0	0	22	
%	90	10	0	100		%	100	0	0	100	
Serie III Abreibung: 11. 7. 51 (55 Tage alte Pflanzen)											
T. 1	0	3	6	9		K. 1	5	3	2	12	2
2	2	3	1	6		2	0	2	4	6	
3	8	2	1	11		3	3	2	0	6	1
4	4	2	0	6		4	0	5	1	7	1
Summe	14	10	8	32			8	12	7	31	4
%	43,7	31,3	25	100		%	25,8	38,7	22,6	100	12,9
Serie IV Abreibung: 13. 8. 51 (auf alte Blätter) 88 Tage alte Pflanzen											
T. 1	4	1	0	5		K. 1	9	1	0	10	
2	0	1	5	6		2	0	1	4	5	
3	8	0	0	9	1	3	6	1	1	8	
4	2	2	5	10	1	4	0	2	6	9	1
Summe	14	4	10	30	2		15	5	11	32	1
%	46,7	13,3	33,3	100	6,7	%	46,9	15,6	34,5	100	3,12
Serie V Abreibung: 13. 8. 51 (auf junge Blätter) 88 Tage alte Pflanzen											
T. 1	0	1	8	9		K. 1	0	0	6	7	1
2	6	2	0	9	1	2	8	1	2	11	
3	1	4	0	5		3	0	3	3	6	
4	10	0	0	10		4	0	1	6	7	
Summe	17	7	8	33	1		8	5	17	31	1
%	51,5	21,2	24,2	100	3,0	%	25,8	16,2	55	100	3,22

Symptome, doch auch bei der Tabak-Y-Gruppe traten sie nicht in der früheren Stärke auf. Während aber die Pflanzen der letzten Gruppe am 28. August zu vergilben und abzureifen begannen, besaßen die Kartoffel-Y-Pflanzen noch weitgehend intaktes grünes Laub.

Die Augenstecklingsprüfung (Tab. 1, III, T u. K) zeigte, daß der Verseuchungsgrad in beiden Gruppen erheblich nachgelassen hatte. Tabak-Y konnte sich diesmal deutlich stärker durchsetzen als Kartoffel-Y. Die Knollen einer Pflanze der Tabak-Y-Gruppe (Tab. 1, III, T 1) waren fast ganz virusfrei geblieben, bis auf drei Knollen, die je ein positives Auge aufwiesen. Diese Pflanze war aber vorzeitig an *Rhizoctonia* abgestorben, so daß die Virusabwanderung in die Knollen offenbar beizeiten gestoppt wurde. — Diese Serie bot auch Gelegenheit, das Eindringen des Y-Virus in mehrere — bis zu vier — an einem Stolon hintereinanderliegende Knollen etwas zu studieren. In der Tabak-Y-Gruppe traten die virusfreien Augen fast nur an der der Pflanze zunächst liegenden Knolle auf, obwohl diese von dem in die nachfolgenden Knollen einströmenden Virus passiert werden mußte; sie selbst wurde aber nur teilweise infiziert (Abb. 1).

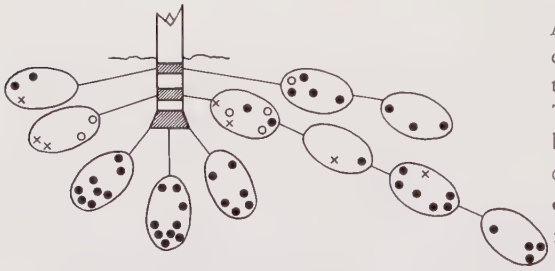


Abb. 1. Schematisierter Knollenbehang einer mit Tabak-Y beimpften Kartoffelpflanze (Nr. 3 aus Serie III, Topfpflanze), im Alter von 55 Tagen beimpft
○ virusfreie Augen
● mit Y-Virus verseuchte Augen
× durch Fäulnis ausgefallene Augen

Bei der Kartoffel-Y-Gruppe lagen die Verhältnisse umgekehrt. Hier zeigten sich die drei der Pflanze benachbarten Knollen infiziert, während die vierte, am entferntesten liegende Knolle teilweise virusfrei war. Bei einem weiteren Knollenpaar der gleichen Pflanze war ebenfalls die am weitesten von der Pflanze liegende Knolle virusfrei; die am nächsten liegende Knolle fiel leider durch Fäulnis aus, so daß sich über ihre Verseuchung nichts aussagen läßt. Ein drittes Knollenpaar erwies sich gänzlich verseucht bis auf ein virusfreies Auge an der der Pflanze benachbarten Knolle. Die Verhältnisse liegen hier so verschieden, daß sich irgendwelche Gesetzmäßigkeiten nicht ableiten lassen.

Serie IV und V

Am 13. August wurden zwei Serien von Versuchspflanzen mit dem gleichen Tabak- und Kartoffel-Y-Virus wie früher beimpft. Während bei einer Serie (Tab. 1 IV) die Preßsäfte auf Endfiedern älterer (unterer) Blätter verrieben wurden, wurde die zweite Serie (V) an jüngeren (oberen) Blättern infiziert. Die Pflanzen waren in der Vegetation schon weit vorgeschritten und hatten längst abgeblüht, ihr Alter betrug 88 Tage. In den vier Gruppen der beiden Serien traten an den Kartoffelpflanzen keine Krankheits-Sym-

ptome mehr auf, nur eine Pflanze der Tabak-Y-Gruppe in Serie IV machte eine Ausnahme. An dieser wurden am 28. August, also 15 Tage nach der Beimpfung, Strichel-Symptome an jüngeren Seitentrieben festgestellt. Der Haupttrieb blieb symptomfrei.

Die Knollen dieser letzten Pflanze erwiesen sich in der Augenstecklingsprüfung als gänzlich virusverseucht, wie die Tabelle 1, unter IV, T 3 ausweist; eine Knolle war durch Fäulnis ausgefallen und konnte nicht geprüft werden. Aber auch einzelne Pflanzen anderer Gruppen (IV T u. K, V T u. K) wiesen gänzlich vom Virus durchdrungene Knollen auf, obwohl am Laub Symptome fehlten, die auf das Vorhandensein von Y-Virus hätten schließen lassen.

Im ganzen verhielten sich Tabak-Y und Kartoffel-Y in der auf alte Blätter geimpften Serie (Tab. 1) nahezu gleich. In beiden Gruppen waren etwa die Hälfte der Knollen gänzlich durchseucht, rund ein Drittel blieb virusfrei, während jede sechste bis siebente Knolle gesunde und infizierte Augen nebeneinander aufwies.

Diese Verhältnisse änderten sich jedoch gleich wieder, sobald die Infektion auf jüngere (obere Blätter) erfolgte (Tab. 1, Serie V). Tabak-Y vermochte sich hierbei wieder deutlich stärker durchzusetzen, indem es die Hälfte der Knollen gänzlich infizierte und nur etwa ein Viertel vollständig virusfrei ließ; das restliche Viertel enthielt wieder Y-positive und negative Augen an jeweils einer Knolle. — Bei Kartoffel-Y kehrte sich dieses Zahlenverhältnis

Tabelle 2

Verteilung der + und — Augen auf Kronenende, Mittelzone und Nabelende

	Tabak-Y							Kartoffel-Y						
	Kronenende Zahl der Augen		Mitte Zahl der Augen		Nabelende Zahl der Augen		Augen zusammen	Kronenende Zahl der Augen		Mitte Zahl der Augen		Nabelende Zahl der Augen		Augen zusammen
	+	—	+	—	+	—		+	—	+	—	+	—	
4. 6. 51 (beimpft im Alter von 18 Tagen)														
	42	1	21	—	16	1	81	57	—	21	—	18	—	96
%	98	2	100	—	94	6		100	—	100	—	100	—	
15. 6. 51 (beimpft im Alter von 29 Tagen)														
	73	2	27	—	27	1	130	95	—	30	—	24	—	149
%	97	3	100	—	96	4		100	—	100	—	100	—	
11. 7. 51 (beimpft im Alter von 55 Tagen)														
	65	50	31	18	18	13	195	30	54	19	18	17	10	138
%	57	43	63	37	58	42		36	64	51	49	63	37	
13. 8. 51 (beimpft im Alter von 88 Tagen, alte Blätter)														
	49	30	17	15	13	12	136	55	47	16	16	12	13	159
%	62	38	53	47	52	48		54	46	50	50	48	52	
13. 8. 51 (beimpft im Alter von 88 Tagen, junge Blätter)														
	59	41	18	9	31	1	159	24	62	17	16	11	13	143
%	59	41	67	33	97	3		28	72	52	48	46	54	

völlig um, indem nur ein Viertel der Knollen sich als ganz durchseucht erwies und mehr als die Hälfte virusfrei geblieben war. In der Tendenz entspricht dieses Ergebnis etwa dem der Serie 3 vom 11. Juli, obwohl dort der Anteil mit nur teilweise verseuchten Knollen wesentlich höher lag.

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß in den drei letzten beimpften Serien vom 11. Juli ab Y-positive und negative Augen sich zu mehr oder weniger gleichen Teilen über die ganze Knolle verteilen, sowohl bei Tabak-Y als auch bei Kartoffel-Y. Nur die Abreibung auf junge Blätter vom 13. August zeigt eine stärkere Massierung der Y-positiven Augen an den Nabelenden der Knollen.

b) Feldpflanzen

Die bisherigen Befunde bezogen sich nur auf Einzelpflanzen, d. h. auf einzelne Stengel, die, frühzeitig von der Knolle abgetrennt, zu selbständigen Pflanzen heranwuchsen. Die Feldpflanzen stellen dagegen den Aufwuchs aus je einer Knolle dar mit mehreren Stengeln, die längere Zeit über die Mutterknolle miteinander verbunden bleiben und teilweise auch durch gegenseitige Verwachsungen miteinander in Verbindung stehen. Dies ist bei der Beurteilung der Untersuchungsergebnisse zu berücksichtigen.

Tabelle 3

Freilandpflanzen

Tabak-Y						Kartoffel-Y					
Zahl der Knollen mit:											
Pflanzen Nr.	2+ 1+ Auge(n)	1+u.1— Auge(n)	2— 1— Auge(n)	zusammen	Ausfälle Augen	Pflanzen Nr.	2+ 1+ Auge(n)	1+u.1— Auge(n)	2— 1— Auge(n)	zusammen	Ausfälle (Augen)
a) 1	8 1	2	8 1	20	2	b) 1	7 3	4	9 4	27	7
2	7 1	1	2 2	13	3	2	3 0	1	13 0	17	0
3	5 0	1	5 3	14	3	3	7 1	1	1 2	12	3
4	7 3	4	1 2	17	5	4	5 2	4	3 1	15	3
Summe	27 5	8	16 8	64	13	Summe	22 6	10	26 7	71	13
%	42,4 7,35	12,5	25 12,5	100		%	31,1 8,45	14,1	36,7 9,9	100	
*)Summe	34,0	10,0	20,0	64		Summe	27	13	31	71	
%	53,4	15,5	31,1	100		%	38,2	18,3	43,5	100	

*) Bei einer Anzahl von Knollen konnte nur ein Auge geprüft werden, da das zweite meist durch Fäulnis ausgefallen war. Je nach dem Ergebnis finden sich diese Knollen in Spalte 3 (Knollen mit einem + Auge) oder in Spalte 6 (Knollen mit einem — Auge) verzeichnet. Diese Knollen gehören aber in Wirklichkeit zu einer der drei Gruppen (zwei + Augen, ein + und ein — Auge oder zwei — Augen). Da sich die Zugehörigkeit der Knollen zu einer der genannten Gruppen nicht mehr entscheiden ließ, wurde eine anteilmäßige Verrechnung vorgenommen.

Die Beimpfung mit Y-Virus erfolgte am 15. Juni an einem Stengel auf die Endfiedern des zweiten und dritten Blattes vom Boden her. Die Pflanzen besaßen zu dieser Zeit ein Alter von 30 bis 35 Tagen und eine Höhe von 15 bis 20 cm. Sowohl bei Tabak-Y als auch bei Kartoffel-Y dauerte es lange, bis an den einzelnen Blattfiedern der abgeriebenen Stengel einzelne Strichelnekrosen auftraten. Die nicht abgeriebenen Stengel wiesen noch in

keinem Falle Strichel-Symptome an den Blättern auf. Erst am 9. August, nach fast acht Wochen, wurden bei einzelnen Pflanzen beider Gruppen vereinzelte Strichelnekrosen an Blättern beobachtet, aber jeweils nur an einem der nicht abgeriebenen Stengel.

Das rein zahlenmäßige Ergebnis der Augenstecklingsprüfung gibt Tabelle 3 wieder. Es zeigt eine stärkere Verseuchung der Knollen durch Tabak-Y gegenüber Kartoffel-Y und würde etwa mit den Werten der Tabelle 1 V vergleichbar sein. Betrachtet man aber die Einzelergebnisse dieser Prüfungsreihe, so zeigt sich, daß durchweg in beiden Gruppen die zwei geprüften Augen der den abgeriebenen Stengeln zugehörigen Knollen sich als

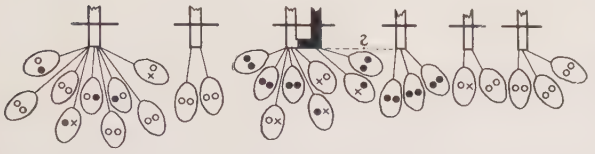


Abb. 2. Schematisierter Knollenbehang an den Stengeln einer mit Kartoffel-Y beimpften Feldpflanze (Nr. 1). Die einzelnen Stengel weitgehend selbständig. Beimpfter Stengel schwarz gezeichnet. Pflanze im Alter von 30 bis 35 Tagen beimpft
○ virusfreie Augen ● mit Y-Virus verseuchte Augen × durch Fäulnis ausgefallene Augen

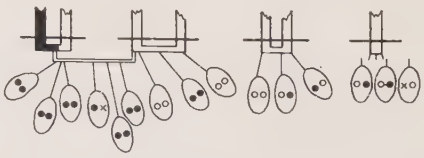


Abb. 3. Schematisierter Knollenbehang an den Stengeln einer mit Kartoffel-Y beimpften Feldpflanze (Nr. 4). Stengel weitgehend miteinander verbunden. Beimpfter Stengel schwarz gezeichnet. Pflanze im Alter von 30 bis 35 Tagen beimpft

Y-positiv erwiesen. Dies läßt auf einen sehr hohen Verseuchungsgrad dieser Knollen schließen und rechtfertigt eher die Zuordnung dieser Befunde zu denen der Tabelle 1, II. Der Verseuchungsgrad der an den unbeimpften Stengeln hängenden Knollen dürfte, wie die Abbildungen 2 und 3 zeigen, neben dem Spiel des Zufalls, weitgehend von dem guten Funktionieren der Verbindungen über die Mutterknolle oder der direkten Verbindungen der einzelnen Stengel untereinander und mit dem infizierten Trieb abhängen. Dabei scheint die Mutterknolle weniger günstige Transportmöglichkeiten für das Virus zu bieten als die direkten Verwachsungen der Stengel, was ja auch ohne weiteres einleuchtend ist.

Besprechung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Infektionsversuche zeigen, wenn man von individuellen Unterschieden zwischen den einzelnen Pflanzen absieht, eine gewisse Abhängigkeit des Verseuchungsgrades der Knollen vom Zeitpunkt der Infektion. Je später diese erfolgte, desto höher lag der Prozentsatz der gänzlich virusfrei gebliebenen Knollen, und auch die Zahl derjenigen mit Y-positiven und -negativen Augen lag gegenüber den zeitigen Infektionen z. T. höher. Eine ähnliche Feststellung machte auch Bercks (1, 2) für das X-Virus. Das Vorkommen virusfreier Augen neben infizierten an einer Knolle sowie das Überschlagen ganzer Knollen, die das Virus auf seinem Wege in die nächstfolgenden und am gleichen Stolon hängenden Knollen durchwandert haben

mußte, steht mit der von KÖHLER (7) angenommenen diskontinuierlichen Viruswanderung in der Pflanze im Einklang. Auch STAPP und MARCUS (13) fanden bei ihren Untersuchungen am Tabak virusfreie Stengelstücke unterhalb systemisch infizierter Blätter und Stengelteile.

Die Frage nach der Lokalisation des Virus in den Knollen der primär infizierten Pflanzen läßt sich dahingehend beantworten, daß bei Tabak-Y die Kronen- und Nabelkeime der früh infizierten Pflanzen sich in geringem Prozentsatz als virusfrei erwiesen, während die dazwischenliegenden Augen ausschließlich kranke Keime lieferten. Der Unterschied zwischen Kronen- und Nabelkeimen ist aber wohl zu gering, als das man ihm prinzipielle Bedeutung beimessen könnte. Ebenfalls verhältnismäßig gering ist die Differenz zu der 100 %ig verseuchten Kartoffel-Y-Gruppe.

Bei den späteren Infektionsterminen mit nachlassender Verseuchung glichen sich die Unterschiede zwischen beiden Gruppen, Tabak- und Kartoffel-Y, weitgehend aus, so daß in allen drei Knollenzonen öfter und vielfach zu fast gleichen Teilen Y-positive und -negative Augen nebeneinander vorkamen. Indessen fanden STAPP und BARTELS (11) bei Untersuchungen über X-Virus, daß in 8 % der Fälle die Kronenkeime allein, in nur einem Falle die Nabelkeime allein, positiv reagierten. Neben dem Zeitpunkt der Infektion und dem verwendeten Virusstamm spielen aber auch weitgehend individuelle Verhältnisse in den infizierten Pflanzen für die Durchseuchung der Knollen eine nicht unerhebliche Rolle.

Aus den Befunden geht weiter hervor, daß unter dem Einfluß der verschiedenen Wirtspflanzen an dem Virus Veränderungen eingetreten sein müssen, die in dem verschiedenen Verhalten von Tabak-Y und Kartoffel-Y ihren Ausdruck finden; sie gehen jedoch nicht so weit, daß sie die serologischen Eigenschaften des Virus-Moleküls wesentlich beeinträchtigen. Beide Herkünfte sind mit ein und demselben (von einem Tabak-Y gewonnenen) Anti-Serum in gleicher Weise nachweisbar. Offenbar wird das Tabak-Y von der Kartoffel als stärker körperfremd empfunden als das Kartoffel-Y, weshalb die Pflanze seiner Ausbreitung einen größeren Widerstand entgegensetzt als dem Kartoffel-Y und auch die Infektion mit viel heftigeren Krankheitssymptomen beantwortet. Daß nicht nur eine bloße Virulenzsteigerung durch die Tabakpassage vorliegt, wie sie des öfteren auf verschiedenartigen Wirten gezogene Viren erkennen lassen, geht aus dem umgekehrten Verhältnis hervor, in dem Symptomausbildung auf dem Laub und Verseuchungsgrad der Knollen bei Kartoffel-Y und Tabak-Y stehen.

Später, in der älteren Pflanze, scheinen die Strömungsverhältnisse des Assimilatestromes größeren Einfluß auf die Virusausbreitung in der Pflanze zu gewinnen, so daß sich hier die Unterschiede etwas verwischen. Ähnliche Abhängigkeit der Virusverseuchung der Knollen vom Zeitpunkt der Infektion stellte BERCKS (2) für X-Virus fest. Der gleiche Autor (3) fand auch, daß X-Virus auf Tabak und Kartoffel nicht voll identisch ist. KÖHLER (6) konnte zeigen, daß bei X-Virusstämmen, die auf Tabak kultiviert wurden, nach Verimpfung auf Kartoffeln und Rückimpfung von den Tochterpflanzen auf Tabak neue Varianten (Mutanten) auftraten. Ebenso fand SALAMAN (9),

daß gewisse X-Linien durch Passage über verwandtschaftlich entfernter stehende Pflanzen in andere Linien übergehen, jedoch meist in Richtung zur schwächeren Virulenz. Auf der gleichen Linie dürfte ein Befund von Lein (8) liegen, der feststellte, daß die Erbmasse eines Roggens nach einer Weizenplasmapassage sich nicht mehr mit der ursprünglichen Erbmasse als völlig gleich erwies. Offenbar bestehen bei den nur molekular organisierten Parasiten und anderen plasmatischen Gebilden viel engere Gast-Wirt-Beziehungen als bei den höher, zellular, organisierten wie z. B. Bakterien, Pilzen usw., so daß der Wirtsorganismus ersteren in stärkerem Maße sein Gepräge aufzuzwingen vermag als den letzteren. Dem scheinen jedoch Befunde von Stanley (10) entgegenzustehen, der das Molekül eines bestimmten T.M.-Virusstammes in seiner chemischen Zusammensetzung stets gleich fand, einerlei aus welcher Pflanzenart er es isolierte. Da sich Proteine aber häufig weniger durch ihre chemische Zusammensetzung unterscheiden als in ihrer Struktur und räumlichen Lagerung von Molekülgruppen, so braucht hier nicht notwendigerweise ein Widerspruch zu bestehen. Außerdem handelt es sich hier um zwei gänzlich verschiedene Viren.

Zusammenfassung

Kartoffelpflanzen wurden zu verschiedenen Zeitpunkten mit einem auf Kartoffel und Tabak gezogenen Y-Virusstamm infiziert und die Virusverseuchung der ausgereiften Knollen untersucht.

Tabak-Y vermochte die Knollen der im Alter von 29 Tagen infizierten Pflanzen stärker zu verseuchen als die der mit 18 Tagen infizierten Pflanzen. Bei beiden Gruppen fand sich aber immer noch ein gewisser Prozentsatz unvollständig durchseuchter Knollen. Kartoffel-Y durchseuchte dagegen die Knollen der Pflanzen aus diesen beiden Altersgruppen 100 %ig.

Die später, im Alter von 55 und 88 Tagen, infizierten Pflanzen wiesen neben ganz und teilweise verseuchten Knollen auch solche auf, die virusfrei geblieben waren. Die Knollen der mit 88 Tagen infizierten Pflanzen erwiesen sich nicht schwächer verseucht als diejenigen der mit 55 Tagen infizierten Pflanzen, einerlei ob die Infektion auf alten oder jungen Blättern erfolgte. Auch zwischen Tabak- und Kartoffel-Y bestanden hier kaum wesentliche Unterschiede.

Tabak-Y bewirkte namentlich auf den jünger infizierten Pflanzen wesentlich stärkere Krankheitssymptome als Kartoffel-Y.

Der Verseuchungsgrad der Knollen von Feldpflanzen ist bei den am infizierten Stengel hängenden am größten und entspricht in seiner Tendenz dem der Topfpflanzen entsprechenden Alters. Die Verseuchung der von den übrigen Stengeln hervorgebrachten Knollen ist von direkten Verbindungen (zum Teil auch Verwachsungen) mit dem infizierten Stengel oder von der Verbindung über die Mutterknolle abhängig.

Aus dem Verhalten von Tabak-Y und Kartoffel-Y wird geschlossen, daß durch die Tabakpassage nicht nur eine Virulenzsteigerung eingetreten ist, sondern daß Veränderungen am Virusmolekül stattgefunden haben.

Literaturverzeichnis

1. Bercks, R. Fortgeführte serologische Untersuchungen über das X-Virus in der Kartoffelpflanze. Phytopathol. Zeitschr. **16**, 1950, 491—506.
2. — —. Über die X-Virusverseuchung des Nachbaues von primärinfizierten Kartoffelpflanzen. Nachrichtenblatt d. Deutsch. Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) **2**, 1950, 147—149.
3. — —. Serologische Untersuchungen über das X-Virus in Kartoffelpflanzen. Phytopathol. Zeitschr. **16**, 1950, 71—85.
4. Köhler, E. und Heinze, K. Zur Methodik der vergleichenden Sortenprüfung auf Y-Virus-Resistenz bei Kartoffeln. Der Züchter, Jahrg. **11**, 1939, 169—174.
5. Köhler, E. Untersuchungen über Y-Virus-Resistenz bei Kartoffeln. Der Züchter, Jahrg. **12**, 1940, 273—275.
6. — —. Über die mutationsauslösende Wirkung von Kartoffelpassagen auf verschiedene nekrotische Stämme des X-Virus. Zentralblatt f. Bakt. II, 102, 100, 1940. Ref. Der Züchter, Jahrg. **12**, 1940, 280.
7. — —. Beiträge zur Kenntnis der Viruswanderung in der Pflanze. Mitt. I. Biol. Zentralblatt **62**, 1942, 205—220.
8. Lein. Der Züchter **19**, 1948, 101—108. Ref. Umschau, Jahrg. **49**, 1949, 746.
9. Salaman, R. N. The potato Virus „X": Its strains and relations. Phil. Trans roy. Soc. London **229**, 1938, 137. Ref. Der Züchter, Jahrg. **11**, 1940, 142.
10. Stanley, W. M. Chemical studies on viruses. Chem. and Eng. News; Am. Chem. Soc. **25**, 1947, 3786—91.
11. Stapp, C. und Bartels, R. Der serologische Nachweis des X-Virus in Dunkelkeimen der Kartoffelknolle. Der Züchter, Jahrg. **20**, 1950, 42—47.
12. Stapp, C. und Bercks, R. Über weitere Antrocknungsversuche mit Serum gegen Kartoffelviren. Phytopathol. Zeitschr. **15**, 1949, 47—53.
13. Stapp, C. und Marcus, O. Serologische Untersuchungen an Tabak über Ausbreitung und Verteilung der drei Kartoffelviren X, Y und A. Zentralbl. Bakt. II **105**, 1943, 369—405.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin

Von

E. Gäumann und St. Naef-Roth

Mit 8 Abbildungen und 8 Tabellen im Text

Inhalt: 1. Kapitel: Die Fragestellung — 2. Kapitel: Der Einfluß der Amputationsdauer auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse — 3. Kapitel: Der Einfluß einer zweimaligen Toxingabe auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse — 4. Kapitel: Das Größenverhältnis zwischen der ersten und der zweiten Toxingabe — 5. Kapitel: Betrachtung der Ergebnisse — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis.

1. Kapitel

Die Fragestellung

In der vorliegenden Mitteilung soll uns die folgende Frage beschäftigen: Wird die Sensibilität einer Wirtspflanze für ein Welketoxin durch eine wiederholte Applikation dieses Toxines verändert?

Die Humanmedizin kennt für die wiederholte Applikation eines Toxines drei Formen des Verhaltens:

a) eine Abnahme der Reaktionsbereitschaft des Wirtes infolge Gewöhnung an das Gift (Mithridatismus);
b) eine Abnahme der Symptomausprägung des Wirtes infolge aktiver Abwehr durch die Bildung von Antikörpern (Antitoxinen) und
c) eine Steigerung der Reaktionsbereitschaft des Wirtes infolge Sensibilisierung (allergische und anaphylaktische Probleme).

Für das Gebiet der Pflanzenkrankheiten sind unseres Wissens in dieser Hinsicht noch keine systematischen Versuche durchgeführt worden. Wir möchten deshalb in der vorliegenden Mitteilung die Frage besprechen, ob die Sensibilität von Tomatensprossen für Lycomarasmin, also für eines der Toxine des *Fusarium lycopersici*, durch eine wiederholte Applikation dieses Giftes verschoben wird und, wenn ja, in welcher Richtung.

Diese Frage besitzt eine gewisse Bedeutung für das Problem des Krankheits v e r l a u f e s bei einer Infektionskrankheit. Der Erreger, insbesondere einer Welkekrankheit, schüttet ja im Verlaufe der Erkrankung immer und immer wieder gewisse Toxinmengen in den Wirt aus, und zwar wahrscheinlich nicht immer im gleichen Ausmaß, sondern in Stößen oder Wellen von unterschiedlicher Intensität, bedingt durch den Wechsel von Tag und Nacht, von Sonne und Regen, von Frühjahr, Sommer und Herbst. Wie antwortet ein pflanzlicher Körper, der schon mit einem Toxin Bekanntschaft gemacht hat, auf einen neuen Schub dieses Toxines? Mit andern Worten: W i e v e r ä n d e r t s i c h d i e R e a k t i o n s l a g e d e s W i r t e s i m V e r l a u f e d e r b e t r e f f e n d e n E r k r a n k u n g?

Der Mediziner geht bei derartigen Untersuchungen meist in der Weise vor, daß er bestimmte Dosen eines Toxines in bestimmten Zeitintervallen intraparenteral in sonst intakte Versuchstiere einführt und dann die Reaktionsweise der Versuchstiere überwacht. Dieser Weg ist bei pflanzlichen Versuchsobjekten leider nicht gangbar.

a) Welketoxine können zwar mit mechanischer Gewalt an günstigen Stellen in eine Versuchspflanze injiziert werden; da aber den Pflanzen das geschlossene Kreislaufsystem fehlt, das eine gleichmäßige Verteilung des eingebrachten Toxines über den gesamten Organismus ermöglichen würde, so beschränkt sich der Effekt auf eine örtliche Nekrose.

b) Auch der Weg, intakte Versuchspflanzen samt dem Wurzelwerk in die Toxinlösung zu stellen und das Toxin auf dem Wege des natürlichen Transpirationsstromes in die Pflanze eintreten zu lassen, führt nicht zum Ziel; denn die meisten Welketoxine vermögen nur schlecht in unverletzte Wurzelhaare und Epidermiszellen einzudringen, und wenn sie eindringen, so schädigen sie diese Zellen vor sich her und versperren sich dadurch selbst den weiteren Weg. Der Übertritt der Welketoxine in die Wurzelpartie erfolgt deshalb vorwiegend durch kleine Wunden und dementsprechend willkürlich, sporadisch und meist viel zu langsam. Wir sind deshalb gezwungen, das Wurzelwerk samt den älteren Stengelpartien wegzuschneiden, den a m p u t i e r t e n Sproß in die Toxinlösung zu stellen und das Toxin durch die Schnittfläche in sein Inneres eintreten und durch die Leitungsbahnen des Transpirationsstromes aufsteigen zu lassen. Wir können dementsprechend nicht mit i n t a k t e n Versuchspflanzen arbeiten (wie die Mediziner es mit intakten Versuchstieren tun), sondern wir arbeiten mit pflanzlichen Sprossen, die durch das Abschneiden der basalen Stengelpartie bereits einen letalen Eingriff erfahren haben.

c) Durch diese ungünstige versuchstechnische Ausgangslage erhält bei den pflanzlichen Objekten der Z e i t f a k t o r ein überragendes Gewicht: der Toxinversuch muß abgeschlossen sein, ehe sich die traumatische Schädigung des Sprosses erheblich auf seine Reaktionslage auszuwirken beginnt. Dadurch geraten wir in Zeitnot: die Versuche sollten nicht über 72 (maximal nicht über 96) Stunden hinaus ausgedehnt werden.

d) Durch diese vom Objekt her gegebene Beschränkung der Versuchsdauer wird die Zahl der möglichen Applikationen der Welketoxine auf zwei beschränkt; denn die Ablesung (Bonitierung) der Schädigungssymptome kann frühestens 48 Stunden nach erfolgter Applikation des Toxines stattfinden.

Die Frage, ob die Reaktionslage einer Versuchspflanze durch die wiederholte Applikation eines Welketoxines verschoben wird, kann deshalb beim heutigen Stand der pflanzenpathologischen Forschung noch nicht in der sauberen Weise behandelt werden wie in der Humanmedizin. Dennoch lohnt es sich, einmal für ein bestimmtes Objektpaar der Frage nachzugehen, ob eine zweimalige Applikation eines Toxines (im vorliegenden Falle des Lycomarasmins) eine Verschiebung der Reaktionslage des Wirtes (im vorliegenden Falle der Tomatensprosse) zur Folge hat.

2. Kapitel

Der Einfluß der Amputationsdauer auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse

Ehe wir an die Besprechung der Hauptversuche herantreten, möchten wir eine Methodenfrage abklären. Unsere Versuche werden ja darin bestehen, daß Tomatensprosse unmittelbar nach dem Abschneiden eine erste Toxindosis zugeführt erhalten und dann 24 Stunden später überlagernd eine zweite Toxindosis. Frage: Bewirkt nicht schon dieser zeitliche Abstand von 24 Stunden zwischen dem Abschneiden der Sprosse und der Applikation eines Toxines eine Verschiebung der Toxinempfindlichkeit der Sprosse?

In concreto: Ist es für das Ausmaß der toxigenen Schädigung der Tomatensprosse gleichgültig, ob sie eine bestimmte Toxinmenge unmittelbar nach dem Abschneiden zugeführt erhalten oder ob man sie erst 24 Stunden in Leitungswasser ihr neues Gleichgewicht finden läßt und ihnen erst dann die gegebene Toxinmenge zuführt?

Von den Transpirationsversuchen mit abgeschnittenen Sprossen her ist ja bekannt, daß die Sprosse unmittelbar nach dem Abschneiden eine traumatische Störung z. B. des Wasserhaushaltes durchmachen; aus diesem Grunde stellten wir ja bei unseren Transpirationsmessungen (z. B. Gäumann und Jaag, 1947) die abgeschnittenen Tomatensprosse zunächst bis zu 24 Stunden in Leitungswasser und erst dann in die Toxinlösung; am Ende der 24stündigen Adaptionszeit hatten sich Wasseraufnahme und Wasserabgabe auf einer neuen Ebene stabilisiert: der Wasserumsatz war wieder konstant geworden, nur war er geringer als vorher bei den intakten Sprossen.

Wir fragen uns deshalb in der nunmehr zu besprechenden ersten Versuchsreihe, ob diese Veränderung des Stoffhaushaltes auch in einer unterschiedlichen Toxinempfindlichkeit der Sprosse zum Ausdruck kommt.

1. Versuch

Versuchsfrage: Wirkt sich die traumatische Störung des Stoffhaushaltes, die durch das Abschneiden der Tomatensprosse eingeleitet wird, auch in einer unterschiedlichen Lycomarasmin-Empfindlichkeit der Sprosse aus?

Von jungen, etwa 25 cm hohen Tomatenpflanzen der Sorte Tuckswood werden die Sproßenden mit je vier Blättern mit einer Rasierklinge abgeschnitten, in Wasser gestellt und sogleich gewogen. Die Sprosse der Gruppe A werden unmittelbar in eine $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molare Lycomarasminlösung gestellt und nach Aufnahme der vorgesehenen Toxinmenge in Leitungswasser übertragen. Die Sprosse der Gruppe B werden zunächst für 24 Stunden in Leitungswasser gestellt, dann in die Toxinlösung übertragen und nach Aufnahme der vorgesehenen Toxinmenge wieder in Leitungswasser zurückgebracht. Jede Stufe jeder Gruppe umfaßt 20 gleichartige Versuchssprosse.

Lufttemperatur des Versuchsraumes 21 ° C. Rel. Feuchtigkeit zwischen 70 und 90 %. Belichtung durch zwei Fluoreszenzlampen von je 1 m Länge in 60 cm Abstand. 72 Stunden nach Verabreichung des Giftes werden die vier Blätter jedes Sprosses in gewohnter Weise qualitativ in den fünf Stufen 0 bis 4 bonitiert. Sowohl die Gruppe A als die Gruppe B war somit 72 Stunden der Giftwirkung ausgesetzt; bei der Gruppe A begann jedoch die Giftwirkung unmittelbar nach dem Abschneiden, bei der Gruppe B dagegen erst 24 Stunden später.

Die Ergebnisse (Mittelwerte und Streuung) sind in Tabelle 1 zusammengestellt und in Abb. 1 graphisch veranschaulicht. Bei niederen, stark subletalen Dosen besteht ein erheblicher Unterschied in der Toxizität des eingebrachten Giftes je nach dem Zeitpunkt, in welchem es auf die Versuchspflanzen einzuwirken beginnt, ob sogleich nach dem Abschneiden der Sprosse oder erst 24 Stunden später; so bewirkt die Lycomarasminmenge von 50 mg je kg Frischgewicht einen durchschnittlichen Welke-Effekt von 0,23 bei sofortiger Applikation und einen solchen von 1,56 bei Applikation erst 24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse.

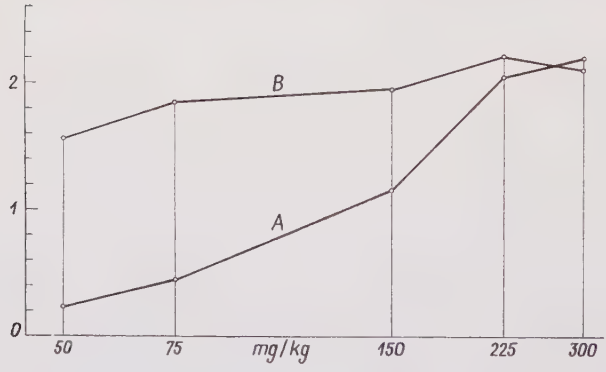


Abb. 1. Die unterschiedliche Toxizität des Lycomarasmins bei sofortiger Verabreichung nach dem Abschneiden der Sprosse (Gruppe A) und bei Verabreichung erst 24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse (Gruppe B). Abszisse: Verabreichte Lycomarasminmenge in mg je kg Frischgewicht in logarithmischer Abtragung. Ordinate: Schädigungsintensität in der Abstufung von 0 bis 4. Diese Abbildung entspricht der Tabelle 1

Bei wachsenden Giftmengen nimmt die Spann-

weite der unterschiedlichen Giftwirkung zusehends ab, bis sich die Kurven schneiden. Bei 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht beträgt die Spanne noch 0,79, also noch rund $^3/_4$ einer Intensitätsstufe; bei der doppelten Dosis (300 mg, d. h. bei einer letalen Dosis) fällt dagegen die Spätwirkung dahin.

Tabelle 1

Die Toxizität des Lycomarasmins bei verschiedener Applikation

Verabreichte Dosis mg/kg	Gruppe A Die betreffende Giftmenge wurde sogleich nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht	Gruppe B Die betreffende Giftmenge wurde erst 24 Std. nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht
50	0,23 ± 0,31	1,56 ± 0,52
75	0,44 ± 0,33	1,84 ± 0,59
150	1,15 ± 0,35	1,94 ± 0,45
225	2,04 ± 0,49	2,20 ± 0,41
300	2,18 ± 0,43	2,09 ± 0,40

Abb. 1 läßt somit vermuten, daß sich die traumatische Störung des Stoffwechsels, die durch das Abschneiden der Tomatensprosse verursacht wird, im Verlaufe von 24 Stunden in einer erheblichen Steigerung ihrer Toxinempfindlichkeit auswirkt. Diese Erscheinung läßt sich auf zwei Wegen erklären; entweder

a) durch eine unmittelbare Steigerung der Toxinempfindlichkeit der Wirtspflanzen oder

b) durch eine Steigerung der Giftigkeit des eingebrachten Toxines. Wir hatten ja auf Grund früherer Versuche angenommen, daß sich das eingebrachte Lycomarasmin teilweise mit den Eisenbestandteilen des Plasmas zu dem rund zehnmal giftigeren Lycomarasmin-Eisen-Komplex verbinde. Man könnte sich nun vorstellen, daß als Nachwirkung des Abschneidens der Sprosse eine gewisse Menge Eisen freigesetzt werde oder sich sonstwie leichter mit dem Lycomarasmin verbinde und daß diese raschere Bildung des giftigen Lycomarasmin-Eisen-Komplexes die Ursache für den stärkeren Welke-Effekt in der Gruppe B sei.

Um diese Alternative zu klären, wiederholten wir den ersten Versuch, nur diesmal mit dem Lycomarasmin-Eisen-Komplex.

2. Versuch

Versuchsfrage: Besteht die im ersten Versuch festgestellte traumatische Steigerung des toxigenen Welke-Effektes auch dann, wenn statt des reinen Lycomarasmins der äquimolare Lycomarasmin-Eisen-Komplex in die Tomatensprosse eingebracht wird?

Entsprechend der höheren Giftigkeit des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes wurde die einzubringende Giftmenge gegenüber der Tabelle 1 stark

reduziert, nämlich auf 10 bis 80 mg je kg Frischgewicht. Im übrigen waren die Versuchsbedingungen gleich wie im ersten Versuch. Die Konzentration der Lycomarasmin-Eisen-Komplex-Lösung war $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt und in Abb. 2 graphisch veranschaulicht.

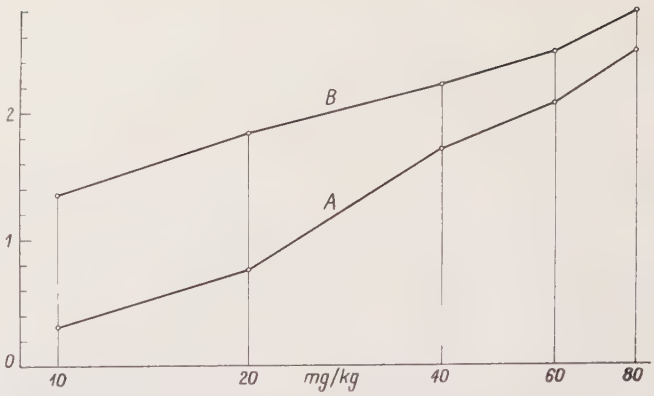


Abb. 2. Die unterschiedliche Toxizität des äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes bei sofortiger Verabreichung nach dem Abschneiden der Sprosse (Gruppe **A**) und bei Verabreichung erst 24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse (Gruppe **B**). Abszisse: Verabreichte Menge des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes in mg je kg Frischgewicht in logarithmischer Abtragung. Ordinate: Schädigungsintensität in der Abstufung von 0 bis 4. Diese Abbildung entspricht der Tabelle 2

Der zweite Versuch zeigt, daß die Wirkungsspanne zwischen den Gruppen **A** und **B** auch dann, und zwar in ähnlicher Weise besteht, wenn statt des reinen Lycomarasmins der äquimorale Lycomarasmin-Eisen-Komplex in die Tomatenpflanzen eingebracht wird. Sie beruht also nicht auf einer erhöhten Giftigkeit des eingebrachten Lycomarasmins, sondern auf einer Sensibilitätssteigerung der abgeschnittenen Tomatensprosse während des Versuches.

Um für diese Erscheinung einen Namen zu haben, bezeichnen wir sie, ohne damit etwas über ihre Natur auszusagen, als die traumatische Sensibilisierung der Tomatensprosse.

Allgemein biologisch betrachtet bewegt sich die traumatische Sensibilisierung durchaus im Rahmen unserer Vorstellungen; es war gewissermaßen zu

Tabelle 2

Die Toxizität des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes bei verschiedener Applikation

Verabreichte Dosis mg/kg	Gruppe A Die betreffende Giftmenge wurde sogleich nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht	Gruppe B Die betreffende Giftmenge wurde erst 24 Std. nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht
10	0,31 ± 0,33	1,36 ± 0,60
20	0,75 ± 0,43	1,83 ± 0,43
40	1,70 ± 0,39	2,21 ± 0,57
60	2,05 ± 0,30	2,46 ± 0,42
80	2,46 ± 0,35	2,78 ± 0,36

„erwarten", daß Tomatensprosse nach dem Abschneiden in zunehmendem Maße toxinempfindlicher werden; denn sie erfahren durch die Amputation eine tiefgehende Schädigung ihrer Lebensfunktionen, insbesondere ihres Stoffwechsels. Die genaue Natur der funktionellen Störung, die zur erhöhten Lycomarasminempfindlichkeit führt, entzieht sich freilich unserer Kenntnis.

3. Kapitel

Der Einfluß einer zweimaligen Toxingabe auf die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse

In dem vorliegenden Kapitel treten wir an die eigentlichen Hauptversuche heran.

3. Versuch

Versuchsfrage: Wie verändert sich die Schädigungsintensität, wenn die Versuchspflanzen unmittelbar nach dem Abschneiden eine bestimmte, jedoch unterschiedliche Menge Lycomarasmin und 24 Stunden später als „Superinfektion" eine identische Menge Lycomarasmin zugeführt erhalten?

Der hier zu besprechende dritte Versuch wurde zusammen mit dem ersten Versuch durchgeführt; es wurden nämlich dort für die Gruppe **A** nicht nur die 100 Tomatenpflanzen, über die wir schon an Hand der Tabelle 1 berichtet haben, vorbereitet, sondern deren 200, für jede Giftstufe ihrer 40. Die ersten 20 Pflanzen wurden nach Applikation der in Tabelle 1 beschriebenen Lycomarasminmengen sich selbst überlassen; die zweiten 20 Pflanzen erhielten nach 24 Stunden noch alle die Dosis von 150 mg Lcyomarasmin je kg Frischgewicht zugeführt; es ist dies die Giftmenge, die wir in einer frühern Arbeit (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950) als die dosis minima oder die kritische Dosis bezeichnet haben, weil sie unter bestimmten äußeren Bedingungen ein bestimmtes Schädigungsbild auslöst. Diese zweimal behandelten Pflanzen bilden die Gruppe **C**; variabel ist also bei ihnen nur die erste, primäre Giftmenge, konstant dagegen die überlagernde zweite Giftmenge.

Bei dieser Gruppe **C** stellt sich die Frage nach dem Zeitpunkt, in welchem die Ablesung der Schädigungen erfolgen solle. Wenn wir beispielsweise die Tomatensprosse am Montag abschneiden und mit der primären Lycomarasminmenge versehen, dann erhalten sie am Dienstag die zusätzlichen 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht zugeführt. Falls wir nun die Schädigungsintensität am Donnerstag ablesen, dann ist die Versuchsdauer der Gruppe **C** mit derjenigen der Gruppe **A** identisch; denn in beiden Fällen haben die Tomatensprosse 72 Stunden nach dem Abschneiden im Versuch gestanden; nur waren die Versuchspflanzen der Gruppe **A** 72 Stunden unter der Einwirkung der primären Giftmenge und die Versuchspflanzen der Gruppe **C** 24 Stunden unter der Einwirkung der primären und bloß 48 Stunden unter der Einwirkung der überlagernden Giftmenge. Um sicher zu sein, daß wir

keinen Fehler begehen, haben wir die Gruppe C zusätzlich auch noch am Freitag abgelesen, wo sie somit 24 Stunden unter der Einwirkung der primären und 72 Stunden unter der Einwirkung der überlagernden Giftmenge gestanden haben. Die Werte vom Donnerstag wurden in Abb. 3 als C_{48}, die Werte vom Freitag als C_{72} bezeichnet. Die Mittelwerte samt Streuung aus den je 20 Versuchspflanzen jeder Giftstufe sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

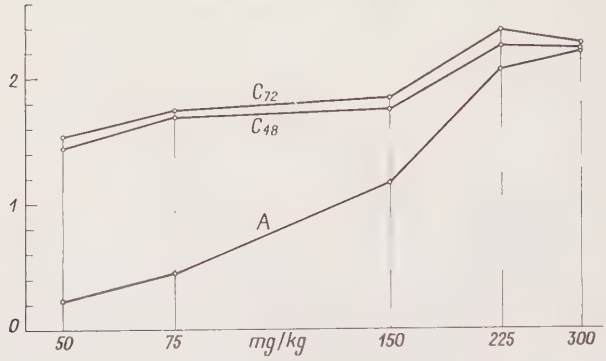


Abb. 3. Der Einfluß einer zweimaligen Lycomarasmingabe auf den Welke-Effekt bei Tomatensprossen. Als erste Gabe wurde die in der Abszisse aufgeführte Menge Lycomarasmin je kg Frischgewicht verabreicht; der Schädigungseffekt, der sich nach 72 Stunden bei den nur mit dieser Gabe behandelten Kontrollen einstellte, ist in Kurve A wiedergegeben. 24 Stunden nach Verabreichung der ersten Lycomarasminmenge erhielten gewisse Versuchssprosse noch eine zweite Lycomarasminmenge, nämlich 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht, zugeführt (Gruppe C); die Schädigung, die in dieser Gruppe C 48 bzw. 72 Stunden nach der Applikation der zweiten Giftmenge erkennbar war, wurde in den Kurven C_{48} bzw. C_{72} wiedergegeben. Diese Abbildung entspricht der Tabelle 3

Wir nehmen zunächst die Frage vorweg: Soll die Ablesung 48 oder 72 Stunden nach Verabreichung der zweiten Giftdosis erfolgen? Tabelle 3 und Abb. 3 lassen erkennen, daß das Bedenken wegen des Zeitpunktes der Ablesung hinfällig ist; denn die jeweils zusammengehörenden Wertepaare weichen

Tabelle 3

Die Toxizität des Lycomarasmins bei zweimaliger Applikation (primäre Giftmenge 50 bis 300 mg; überlagerte Giftmenge 150 mg)

Erste Applikation; Gruppe A		Zweite Applikation; Gruppe C	
		24 Stunden nach Verabreichung der ersten Giftmenge wurden jedem Sproß 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht zugeführt	
Giftmenge, die unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht wurde mg/kg	Schädigungsintensität 72 Stunden nach Verabreichung der betreffenden Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 48 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 72 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge
50	0,23 ± 0,31	1,44 ± 0,58	1,54 ± 0,55
75	0,44 ± 0,33	1,69 ± 0,35	1,74 ± 0,27
150	1,15 ± 0,35	1,74 ± 0,40	1,83 ± 0,25
225	2,04 ± 0,49	2,23 ± 0,35	2,35 ± 0,33
300	2,18 ± 0,43	2,19 ± 0,32	2,24 ± 0,27

nur um wenige Prozente voneinander ab. Wir verwenden deshalb bei unserer Besprechung die Werte C_{48}, deren Pflanzen also insgesamt 72 Stunden im Versuch gestanden haben.

Was nun die uns hier interessierende Frage: Wie verändert sich die Reaktionsbereitschaft der Tomatensprosse durch eine vorangehende Aufnahme von Lycomarasmin? betrifft, so zeigen in Tabelle 3 die Sprosse, die am ersten Tage 50 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht und am zweiten Tage 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht erhielten, eine Welke-Intensität von 1,44. Wenn sie die 150 mg am zweiten Tage o h n e die vorangehende Behandlung erhalten (Gruppe **B** der Tabelle 1), so beträgt der Welke-Effekt 1,94. Der durch die Toxingabe von 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht ausgelöste Welke-Effekt ist somit e r h e b l i c h k l e i n e r, wenn die Tomatensprosse am Vortage schon 50 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht verabreicht erhalten, als wenn ihnen die 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht unmittelbar, ohne Vorbehandlung, zugeführt werden.

Zu demselben Ergebnis gelangen wir, wenn wir nicht die überlagerte Giftmenge von 150 mg, sondern die g e s a m t e verabreichte Giftmenge (50 mg am ersten und 150 mg am zweiten Tag, also insgesamt 200 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht) ins Auge fassen. Werden den Tomatensprossen die 200 mg je kg Lebendgewicht unmittelbar nach dem Abschneiden verabreicht (Fall **A**), so beträgt die Schädigung (interpoliert nach Abb. 1) ungefähr 1,75. Läßt man die abgeschnittenen Tomatensprosse zunächst 24 Stunden in Leitungswasser stehen und verabreicht ihnen d a n n die 200 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht (Fall **B**), so erfahren sie (interpoliert aus Abb. 1) eine durchschnittliche Schädigung von 2,12; sie sind somit (wie ja seinerzeit auch aus Versuch 1 hervorging) während der 24 Stunden, da sie in abgeschnittenem Zustande im Leitungswasser zugebracht haben, t o x i n e m p f i n d l i c h e r geworden. Und führt man ihnen die 200 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in zwei Raten zu, nämlich 50 mg unmittelbar nach dem Abschneiden und 150 mg 24 Stunden später (Fall **C**), so beträgt die durchschnittliche Schädigung nur noch 1,44. Bei fraktionierter Applikation der 200 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht wird somit nicht nur die erhöhte Toxinempfindlichkeit, die beim Übergang vom ersten zum zweiten Versuchstage eintritt, aufgehoben, sondern die Schädigung fällt erheblich kleiner aus, als wenn dieselbe Toxinmenge auf einmal am ersten oder am zweiten Tag verabreicht worden wäre.

Ähnlich gestalten sich die Verhältnisse bei der Primärgabe von 75 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht. Hier beträgt nach Tabelle 3 der Welke-Effekt bei der Primärgabe von 75 mg am ersten Tage plus der überlagernden Gabe von 150 mg am zweiten Tage 1,69; wäre dagegen die zweite Gabe ohne Vorbehandlung gleich am zweiten Tage verabreicht worden, so hätte der Welke-Effekt 1,94 betragen. Infolge der vorangehenden Verabreichung der Toxinmenge von 75 mg je kg Lebendgewicht sprechen somit die Tomatensprosse auf die Dosis von 150 mg je kg Lebendgewicht wiederum deutlich

schwächer an, als wenn ihnen diese selbe Toxindosis ohne Vorbehandlung unmittelbar am zweiten Tage zugeführt worden wäre.

Auch hier gelangen wir zum selben Ergebnis, wenn wir die gesamte verabreichte Toxinmenge (75 mg am ersten und 150 mg am zweiten Tage, also insgesamt 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht) betrachten. Werden den Tomatensprossen die 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht unmittelbar nach dem Abschneiden verabreicht (Fall **A**), so beträgt die Schädigung nach Tabelle 1 2,04. Läßt man die abgeschnittenen Sprosse zunächst 24 Stunden in Leitungswasser stehen und verabreicht ihnen dann die 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht (Fall **B**), so beträgt die Schädigung nach Tabelle 1 2,20; die Sprosse sind also während der 24 Stunden, die sie in abgeschnittenem Zustande im Leitungswasser zubrachten, wiederum toxinempfindlicher geworden. Und führt man ihnen die 225 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in zwei Raten zu, nämlich 75 mg unmittelbar nach dem Abschneiden und 150 mg 24 Stunden später (Fall **C**), so beträgt die durchschnittliche Schädigung nur noch 1,69. Wiederum wird die traumatische Steigerung der Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse durch die fraktionierte Applikation des Giftes rückgängig gemacht, und die durchschnittliche Schädigung der Sprosse ist kleiner, als wenn ihnen dieselbe Giftmenge auf einmal am ersten oder am zweiten Tage verabreicht worden wäre.

Gleichgültig, ob wir bloß die überlagernde oder ob wir die gesamte verabreichte Toxinmenge betrachten, so ist das Ergebnis in beiden Fällen dasselbe:

a) Bei Betrachtung der überlagernden Giftmenge. Wenn wir den Tomatensprossen am ersten Versuchstage eine Lycomarasminmenge von 50 oder von 75 mg je kg Lebendgewicht verabreichen und am zweiten Versuchstage eine Lycomarasminmenge von 150 mg je kg Lebendgewicht, so ist die Schädigung in beiden Fällen erheblich kleiner als wenn ihnen die 150 mg für sich allein am zweiten Tage verabreicht worden wären.

b) Bei Betrachtung der gesamten verabreichten Toxinmenge. Wenn wir den Tomatensprossen am ersten Versuchstage eine Lycomarasminmenge von 50 oder von 75 mg je kg Lebendgewicht verabreichen und am zweiten Versuchstage eine Lycomarasminmenge von 150 mg je kg Lebendgewicht, so ist die Schädigung in beiden Fällen erheblich kleiner, als wenn ihnen die 200 bzw. 225 mg für sich allein am ersten oder am zweiten Versuchstage verabreicht worden wären.

Gewiß liegt jeder Einzelwert, für sich allein betrachtet, nahe dem Streuungsbereich seines Partners; aber es ist sicher kein Zufall, daß sämtliche Werte gleichsinnig abweichen, nämlich im Sinne einer Abnahme der Reaktionsbereitschaft oder der Reaktionsfähigkeit der Tomatensprosse nach einer vorangehenden leichten Vergiftung mit Lycomarasmin.

In dem Maße, wie sich die primär verabreichte Toxinmenge der letalen Dosis von 300 mg je kg Frischgewicht nähert, laufen in Abb. 3 die Kurven A und C_{48} gegeneinander hin. Dies kann nicht überraschen; es läßt sich naturgemäß bei einem bestimmten Verfahren nicht mehr als ein bestimmter Schädigungseffekt erzielen; deshalb können 225 bzw. 300 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht am ersten Tage plus 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht am zweiten Tage nicht mehr schädigen als 300 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht am ersten Tage; denn das Schaden m a x i m u m ist bei den 300 mg schon nahezu erreicht. Doch ist auch hier kennzeichnend, daß eine Gabe von 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht am ersten Tage plus dieselbe Gabe am zweiten Tage einen geringeren Welke-Effekt auslöst, als wenn die 300 mg gesamthaft am ersten Tage verabreicht worden wären; es entsteht nämlich nur ein Effekt von 1,74 gegen 2,18 bei Verabreichung der 300 mg je kg Frischgewicht gesamthaft am ersten Tage.

Es stellt sich auch hier die Frage, ob dieser abschwächende Effekt auf das reine Lycomarasmin beschränkt sei oder ob er sich auch beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex einstelle. Hierüber gibt der vierte Versuch Auskunft.

4. Versuch

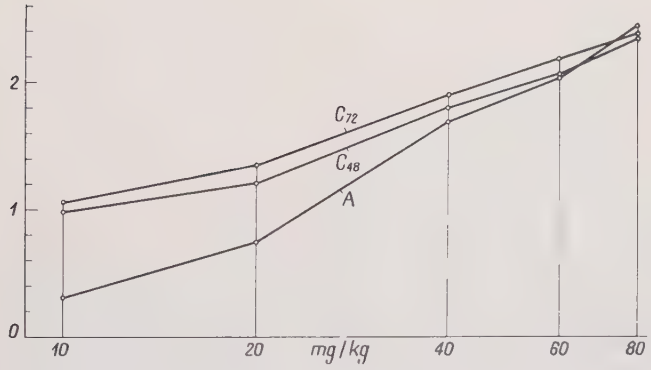


Abb. 4. D e r E i n f l u ß e i n e r z w e i m a l i g e n G a b e d e s L y c o m a r a s m i n - E i s e n - K o m p l e x e s a u f d e n W e l k e - E f f e k t b e i T o m a t e n s p r o s s e n. Als erste Gabe wurde unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse die in der Abszisse aufgeführte Menge des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes je kg Frischgewicht verabreicht; der Schädigungseffekt, der sich nach 72 Stunden bei den nur auf diese Weise behandelten Kontrollen einstellte, ist in der K u r v e A wiedergegeben. 24 Stunden nach Verabreichung der ersten Toxinmenge erhielten die Versuchssprosse noch eine zweite Toxinmenge, nämlich 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Frischgewicht, zugeführt (Gruppe C); die Schädigung, die bei dieser Gruppe C 48 bzw. 72 Stunden nach Applikation der zweiten Giftmenge entstanden ist, wurde in den K u r v e n C_{48} b z w. C_{72} veranschaulicht. Diese Abbildung entspricht der Tabelle 4

V e r s u c h s f r a g e: Stellt sich der in Abb. 3 zu beobachtende Abschwächungseffekt auch dann ein, wenn statt des reinen Lycomarasmins der äquimolare Lycomarasmin-Eisen-Komplex verwendet wird?

Der vierte Versuch steht zum zweiten Versuch im selben Verhältnis wie der dritte zum ersten. Die zweite Serie der Versuchspflanzen des zweiten Versuches erhielt am zweiten Tage eine zusätzliche Gabe von 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Frischgewicht zugeführt, also etwa die doppelte kritische Dosis. Die Ergebnisse sind der Tabelle 4 und der Abb. 4 zu entnehmen.

Tabelle 4

Die Toxizität des äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes bei zweimaliger Applikation
(primäre Giftmenge 10 bis 80 mg; überlagerte Giftmenge 40 mg)

Erste Applikation; Gruppe A	Zweite Applikation; Gruppe C		
	24 Stunden nach Verabreichung der ersten Giftmenge wurden jedem Sproß 40 mg des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes je kg Frischgewicht zugeführt		
Giftmenge, die unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht wurde mg/kg	Schädigungsintensität 72 Stunden nach Verabreichung der betreffenden Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 48 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 72 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge
10	0,31 ± 0,33	0,98 ± 0,31	1,06 ± 0,40
20	0,75 ± 0,43	1,21 ± 0,51	1,35 ± 0,42
40	1,70 ± 0,39	1,81 ± 0,42	1,91 ± 0,30
60	2,05 ± 0,30	2,07 ± 0,30	2,20 ± 0,26
80	2,46 ± 0,35	2,36 ± 0,43	2,40 ± 0,35

Hinsichtlich des Zeitpunktes der Ablesung führt die Betrachtung der Abb. 4 zum selben Ergebnis wie in Abb. 3: Es ist zwar während der letzten 24 Stunden noch eine gewisse Verstärkung des Welke-Effektes eingetreten; doch ist er für die Sache selbst belanglos. Wir halten uns deshalb auch hier an die Kurve C_{48}.

Sodann führt auch die Betrachtung des Hauptversuches zum selben Ergebnis wie in Abb. 3, daß nämlich die Vorbehandlung der Versuchspflanzen mit einer deutlich subletalen Giftmenge ihre Reaktionsfähigkeit oder Reaktionswilligkeit stark abnehmen läßt.

40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Frischgewicht, am zweiten Tage ohne Vorbehandlung verabreicht, lösen nach Gruppe B der Tabelle 2 einen Welke-Effekt von 2,21 aus; läßt man dagegen die Versuchspflanzen zunächst am ersten Tage 10 mg Lycomarasmin-Eisen aufnehmen und führt ihnen nachher am zweiten Tage noch die 40 mg je kg Frischgewicht zu, so beträgt der Welke-Effekt nur noch 0,98; er ist also um mehr als eine Intensitätsstufe geringer geworden.

Dasselbe ist bei Verabreichung von 20 mg am ersten und 40 mg am zweiten Tage der Fall; auch hier beträgt der gesamte Welke-Effekt nur 1,21 gegenüber 2,21 bei Verabreichung der 40 mg am zweiten Tage ohne Vorbehandlung.

Sobald wir uns den höheren Dosen nähern (Primärgabe 40 und mehr mg Lycomarasmin-Eisen je kg Frischgewicht), dann fällt der Abschwächungseffekt wieder dahin; wenn ja die Pflanzen schon am ersten Tage hochgradig geschädigt werden, dann spielt es keine große Rolle mehr, ob man sie am zweiten Tage nochmals schädigt.

Wir möchten aus den Versuchen 3 und 4 schließen, daß durch eine Vorbehandlung der Tomatensprosse mit einer deutlich subletalen Dosis Lycomarasmin oder Lycomarasmin-Eisen irgend etwas in ihnen verändert wird, so daß sie auf eine 24 Stunden später erfolgende Behandlung mit einer kräftigen Dosis desselben Giftes weniger heftig ansprechen. Um für diesen Effekt einen Namen zu haben, bezeichnen wir ihn, ohne damit irgend etwas über seine Natur aussagen zu wollen, als den Desensibilisierungseffekt.

Wir haben diese Versuche zweimal wiederholt, wenngleich in einem geringeren Umfange als bei den hier als Modellbeispiel besprochenen Versuchsreihen 3 und 4; denn diese großen Versuche beanspruchen auch bei Verwendung von automatischen Schnellwaagen sechs völlig eingespielte Mitarbeiter. Es kam dem Sinne nach stets dasselbe heraus: Eine Vorbehandlung mit dem Welkegift vermindert die Reaktionsfähigkeit der Versuchspflanzen bei einer später erfolgenden Nachbehandlung mit demselben Welkegift.

Dabei war die desensibilisierende Wirkung einer kleinen primären Toxinmenge stets größer als diejenige einer großen primären Toxinmenge. Auch in Abb. 3 und 4 nimmt der Desensibilisierungseffekt von rechts nach links, also mit der Abnahme der primär verabreichten Toxinmenge, zu; in beiden Abbildungen divergieren ja die Kurven **A** und **C** von rechts nach links. Was geschieht deshalb mit ihnen in Abb. 3 im Bereich der Lycomarasminmengen von 50 bis 0 mg und in Abb. 4 im Bereich der Lycomarasmin-Eisen-Mengen von 10 bis 0 mg je kg Frischgewicht? Hierüber sollen die fünfte und sechste Versuchsreihe eine Antwort geben.

5. Versuch

Versuchsfrage: Bei welcher Toxinmenge liegt bei reinem Lycomarasmin die untere Grenze des im dritten Versuch festgestellten Desensibilisierungseffektes? Mit anderen Worten: Von welcher primär verabreichten Toxindosis an beginnt ein Desensibilisierungseffekt sich zu zeigen; wie ververändert sich die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse, wenn die primäre Toxindosis schrittweise von 0 auf 150 mg je kg Lebendgewicht erhöht wird?

Der fünfte Versuch wurde in gleicher Weise wie der erste bzw. dritte Versuch disponiert; auch die Konzentration der Toxinlösung betrug wie dort $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar. Nur haben wir in Tabelle 5 beide Ansätze, den ersten kleineren und den zweiten größeren dargestellt, während wir uns in Tabelle 3 auf die Wiedergabe des zweiten größeren Versuches beschränkten.

Wir besprechen zunächst den ersten (kleineren) Ansatz, der in jeder Stufe 15 Versuchspflanzen umfaßte. Die Sprosse erhielten unmittelbar nach dem Abschneiden 0 bis 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht verabreicht.

Die Kontrollen (Gruppe A) erhielten nur diese primäre Menge und wurden 72 Stunden später bonitiert. Wir sehen: die Schädigungsintensität steigt bei diesen Kontrollen ziemlich geradlinig von 0 auf 1,82.

Tabelle 5

Die Toxizität des Lycomarasmins bei zweimaliger Applikation (primäre Giftmenge 0 bis 150 mg; überlagerte Giftmenge 150 mg)

Erste Applikation; Gruppe A		Zweite Applikation; Gruppe C	
		24 Stunden nach Verabreichung der ersten Giftmenge wurden jedem Sproß 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht zugeführt	
Giftmenge, die unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht wurde mg/kg	Schädigungsintensität 72 Stunden nach Verabreichung der betreffenden Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 48 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 72 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge
Erster Ansatz (I)			
0	0	1,95 ± 0,33	—
12,5	0,12 ± 0,08	1,43 ± 0,34	1,80 — 0,27
25	0,41 ± 0,31	1,27 ± 0,35	1,37 — 0,31
50	0,68 ± 0,40	1,47 ± 0,38	1,65 — 0,26
150	1,82 ± 0,41	1,92 ± 0,28	1,92 — 0,28
Zweiter Ansatz (II)			
0	—	1,75 ± 0,27	—
12,5	—	1,01 ± 0,35	1,48 ± 0,32
25	—	0,92 ± 0,35	1,35 ± 0,41
50	—	1,26 ± 0,34	1,46 ± 0,28
75	—	1,20 ± 0,28	1,47 ± 0,32
100	—	1,26 ± 0,30	1,46 ± 0,30
150	1,54 ± 0,27	1,61 ± 0,25	1,69 ± 0,20

Die bei der Toxingabe von 150 mg je kg Lebendgewicht erfolgende Schädigung der Tomatensprosse (1,82 ± 0,41) liegt deutlich höher als der entsprechende Wert der Tabelle 3 (1,15 ± 0,35). Die Versuchspflanzen der Tabelle 5 sind also toxinempfindlicher als die für Tabelle 3 verwendeten Objekte. Diese Abweichung hängt mit der unterschiedlichen Jahreszeit, in der diese Versuche durchgeführt wurden, zusammen. Wie wir später in einer anderen Arbeit zeigen werden, genügt es nämlich bei den Versuchen über die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen nicht, die Versuchspflanzen jeder Versuchsreihe bzw. jedes Ansatzes unter genau identischen Bedingungen nebeneinander aufzuziehen, gleiches Saatgut, gleiches Keimbeet, gleiches Gewächshaus usw., sondern ihre Toxinempfindlichkeit verändert sich überdies auch im Laufe des Jahres und gestaltet sich im Winter etwas anders als im Sommer.

Deshalb können Versuche, die in verschiedenen Jahreszeiten durchgeführt werden, um einen gewissen Betrag voneinander differieren. Innerhalb desselben Versuches sind jedoch die Empfindlichkeitswerte (da ja die Versuchspflanzen unter genau identischen Bedingungen aufgezogen und in jeder Versuchsstufe in genügend großer Zahl verwendet wurden) gut vergleichbar.

24 Stunden nach der Verabreichung der primären Toxinmenge erhielten die Versuchspflanzen der Gruppe C einheitlich 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt. Wir betrachten die Werte, die 48 Stunden nach Aufnahme der zweiten Toxingabe (also 72 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse) abgelesen wurden.

Erhalten die Tomatensprosse am zweiten Tage ohne Vorbehandlung, also ohne Desensibilisierung, unmittelbar die 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt, so beträgt die durchschnittliche Schädigungsintensität 1,95. Erhalten sie dagegen am ersten Tage 25 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht und am zweiten Tage weitere 150 mg je kg Lebendgewicht, also insgesamt in zwei Raten 175 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt, so beträgt die durchschnittliche Schädigung trotz der höhern Toxingabe nur noch 1,27. Und erhalten sie am ersten Tage 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht und am zweiten Tage nochmals 150 mg je kg Lebendgewicht, also insgesamt 300 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt, so fällt die durchschnittliche Schädigung nicht größer aus, als wenn sie nur einmal 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht verabreicht erhalten hätten.

Abb. 5 sucht diesen Sachverhalt graphisch zu veranschaulichen. Schon bei sehr kleinen Primärdosen (12,5 und 25 mg je kg Lebendgewicht), die grobsinnlich nur schwache Schädigungen des Wirtes auslösen (durchschnittliche Intensität weniger als 0,4), erfolgt eine deutliche Depression der Schädigungsintensität (1,27 bis 1,43 gegen 1,95 ohne Vorbehandlung). Die Werte sind zwar statistisch nur knapp gesichert, aber sie sind gesichert und verlaufen zudem sinnvoll.

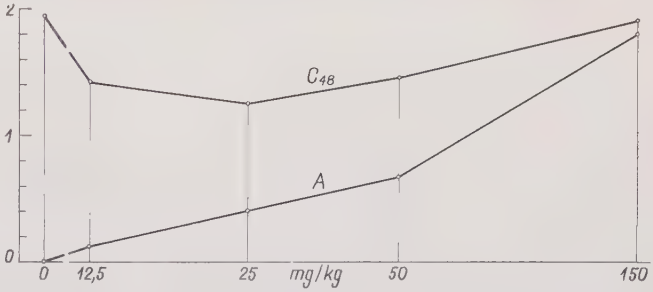


Abb. 5. Der Einfluß einer zweimaligen Lycomarasmingabe auf den Welke-Effekt bei Tomatensprossen. Als erste Gabe wurde die in der Abszisse aufgeführte Menge Lycomarasmin je kg Frischgewicht verabreicht; der Schädigungseffekt, der sich nach 72 Stunden bei den nur mit dieser Gabe behandelten Kontrollen einstellte, ist in Kurve A wiedergegeben. 24 Stunden nach Verabreichung der ersten Lycomarasminmenge erhielten gewisse Versuchssprosse noch eine zweite Lycomarasminmenge, nämlich einheitlich 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht, zugeführt; die Schädigung, die bei diesen Sprossen 48 Stunden nach der Applikation der zweiten Giftmenge erkennbar war, wurde in der Kurve C_{48} wiedergegeben. Diese Abbildung stellt die Verlängerung der Abb. 3 nach links dar

Nach diesem Ergebnis würde durch eine primäre Toxingabe eine Desensibilisierung des Wirtes erfolgen, sobald die primäre Toxingabe groß genug ist, um beim Wirt visuell erkennbare Schädigungen auszulösen.

Um dieses Ergebnis zu erhärten, wiederholten wir diesen Versuch, und zwar mit einer noch größeren Zahl von Versuchspflanzen (25 je Stufe). Nur haben wir bei diesem „zweiten Ansatz" aus Gründen der Arbeitsökonomie (weil in einem bestimmten Augenblick nicht mehr als eine bestimmte Anzahl von Pflanzen bewältigt werden kann) die Pflanzen der Gruppe A nicht mehr durchbonitiert; denn der erste Ansatz war in dieser Hinsicht hinreichend instruktiv.

Tabelle 5 läßt für den zweiten Ansatz im Prinzip denselben Zahlenverlauf erkennen wie für den ersten Ansatz. Werden die 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht ohne Vorbehandlung 24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht, so beträgt die durchschnittliche Schädigungsintensität 1,75 ± 0,27; erhalten dagegen die Versuchssprosse 24 Stunden vorher, also unmittelbar nach dem Abschneiden, eine kleine Toxinmenge verabreicht (12,5 bis 100 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht), so erfolgt eine deutliche Depression des Schädigungseffektes auf 1,01 bis 1,26 hinunter. Auch hier sind die Differenzen statistisch nur knapp gesichert; aber sie sind gesichert, und die Zahlen verlaufen überdies sinnvoll.

Und führt man den Tomatensprossen unmittelbar nach dem Abschneiden eine größere Toxinmenge zu, nämlich 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht, entsprechend unserer „dosis minima", und verabreicht ihnen 24 Stunden später nochmals dieselbe Toxinmenge, so ist der Schädigungseffekt gleich groß, wie wenn die 150 mg nur einmal verabreicht worden wären (1,61 ± 0,23 gegen 1,75 ± 0,27). Der „zweite Ansatz" deckt sich also auch in dieser Hinsicht vollständig mit dem ersten.

Demnach scheinen schon geringe, bei weitem subletale Toxindosen, die gerade noch ausreichen, um beim Wirt schwache visuelle Schädigungen auszulösen, im Innern des Wirtes irgend etwas zu bewirken, das ihn veranlaßt oder befähigt, auf die nachfolgende größere Dosis desselben Toxines schwächer anzusprechen, als wenn er diese große Dosis unmittelbar als erste erhalten hätte.

Zur Veranschaulichung des Sachverhaltes haben wir in Abb. 6 die Abb. 3 und 5 miteinander kombiniert. Die Sprosse der Kurve A erhielten unmittelbar nach dem Abschneiden die in der Abszisse genannte Lycomarasminmenge (und nur diese) verabreicht. Wir sehen: Die Schädigung steigt ziemlich geradlinig an und erreicht bei der Lycomarasminmenge von 150 mg je kg Lebendgewicht bei dem hier zur Diskussion stehenden Pflanzenmaterial einen Wert von etwa 1,8 bis 1,9.

Die Pflanzen der Kurve C_{48} erhielten unmittelbar nach dem Abschneiden die in der Abszisse genannten Lycomarasmin-Mengen als Primärgabe verabreicht und 24 Stunden später noch einheitlich weitere 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht. Die Ablesung erfolgte 48 Stunden nach Verabreichung der zweiten Toxindosis. Sämtliche Pflanzen standen somit 72 Stunden im Versuch. Wir sehen: Die durch die überlagernde Lycomarasminmenge von 150 mg je kg Lebendgewicht ausgelöste Schädigung erfährt zunächst eine Depression und fällt erheblich kleiner aus, als wenn die Versuchspflanzen die 150 mg je kg Lebendgewicht ohne Vorbehandlung zugeführt erhalten hätten. Dieser Desensibilisierungseffekt bleibt im Falle der Abb. 6 bis zu einer Primärgabe von rund 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht erkennbar; dann verwischt er sich, weil die gesamte Schädigung zu groß wird.

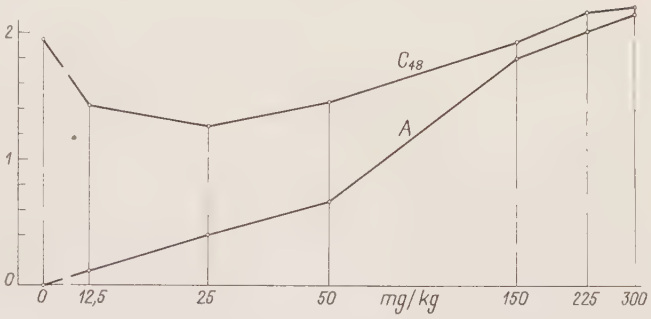


Abb. 6. Schematische Darstellung des Einflusses einer zweimaligen Lycomarasmingabe auf den Welke-Effekt bei Tomatensprossen. Als Primärdosis wurde unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse die in der Abszisse genannte Menge Lycomarasmin je kg Frischgewicht verabreicht (Kontrollen); die Schädigung, die sich nach 72 Stunden bei diesen Kontrollen einstellte, ist in Kurve A wiedergegeben. 24 Stunden nach Verabreichung der primären Lycomarasminmenge erhielten die eigentlichen Versuchspflanzen noch einheitlich weitere 150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht zugeführt; die Schädigung, die in dieser Gruppe nach 48 Stunden auftrat, wurde in der Kurve C_{48} wiedergegeben

Um über das Bestehen dieses Desensibilisierungseffektes noch mehr Gewißheit zu erhalten, haben wir in Tabelle 6 die Versuche der Tabelle 5 wiederholt, nur diesmal mit dem äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex (also entsprechend der Tabelle 4); wie in Tabelle 4 wurde das Toxin in der Konzentration von $0{,}625 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht; und wie in Tabelle 5 wurden zwei Ansätze durchgearbeitet, ein erster Ansatz mit 15 Pflanzen je Stufe und ein zweiter Ansatz mit 25 Pflanzen je Stufe.

Wir besprechen zunächst den ersten Ansatz. Die Kontrollen (Gruppe A), die nur am ersten Tage, also unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse, eine gewisse Toxingabe zugeführt erhielten, zeigen bei den Dosen von 3,5 und 7 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht nur sporadische, nicht zuverlässig erkennbare Schädigungen. Erst bei der Toxingabe von 14 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht werden die Schädigungen manifest; sie steigen dann bei 40 mg je kg Lebendgewicht steil an. Der Grund, warum die Schädigungsintensität bei Toxingaben von 3,5 und 7 mg je kg Lebendgewicht unterhalb der sicher meßbaren Grenze bleibt, liegt offenbar darin, daß bei

derart kleinen Gaben (3,5 mg Toxin auf 1 kg pflanzlichen Körper!) zuviel Substanz unterwegs in den Leitungsbahnen haften bleibt und deshalb gar nicht an den Ort der spezifischen Wirkung, nämlich in die Blattspreiten, hingelangt.

Tabelle 6

Die Toxizität des äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplexes bei zweimaliger Applikation
(primäre Giftmenge 0 bis 40 mg; überlagerte Giftmenge 40 mg)

Erste Applikation; Gruppe A		Zweite Applikation; Gruppe C	
		24 Stunden nach Verabreichung der ersten Giftmenge wurden jedem Sproß 40 mg des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes je kg Frischgewicht zugeführt	
Giftmenge, die unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse verabreicht wurde mg/kg	Schädigungsintensität 72 Stunden nach Verabreichung der betreffenden Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 48 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge	Schädigungsintensität bei Ablesung 72 Std. nach Verabreichung der zweiten Giftmenge
Erster Ansatz (I)			
0	0	1,78 ± 0,42	—
3,5	0,05 ± 0,08	1,62 ± 0,53	1,80 ± 0,53
7	0,05 ± 0,09	1,42 ± 0,54	1,63 ± 0,48
14	0,30 ± 0,56	1,25 ± 0,49	1,32 ± 0,49
40	1,57 ± 0,40	1,83 ± 0,38	1,87 ± 0,28
Zweiter Ansatz (II)			
0	—	1,63 ± 0,32	—
3,5	—	1,47 ± 0,30	1,63 ± 0,35
7	—	1,53 ± 0,38	1,67 ± 0,41
14	—	1,12 ± 0,43	1,24 ± 0,36
21	—	1,07 ± 0,41	1,19 ± 0,38
28	—	1,39 ± 0,34	1,58 ± 0,34
40	1,47 ± 0,44	1,45 ± 0,34	1,67 ± 0,23

Es kann deshalb auch nicht überraschen, daß durch die Toxingabe von 3,5 mg bei der Gruppe C_{48} kein Desensibilisierungseffekt ausgelöst wird; denn die Durchschnittswerte von 1,78 und 1,62 sind praktisch gesprochen identisch.

Bei der Primärgabe von 7 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht ist dagegen schon eine leichte Depression der Gruppe C_{48} zu erkennen, und bei der Primärgabe von 14 mg je kg Lebendgewicht ist die Differenz zwischen „nicht vorbehandelt" (1,78 ± 0,42) und „vorbehandelt" (1,25 ± 0,49) wieder statistisch knapp gesichert. Und bei der Primärgabe von 40 mg je kg Lebendgewicht und der überlagernden Toxingabe von nochmals 40 mg je kg Lebendgewicht liegt die durchschnittliche Schädigung wiederum gleich hoch, wie wenn

nur die primäre Toxingabe für sich allein verabreicht worden wäre (1,83 ± 0,38 gegen 1,78 ± 0,42); die Ergebnisse des ersten Ansatzes der Tabelle 6 decken sich demnach vollkommen mit den Ergebnissen der Tabelle 5.

Zum gleichen Resultat führte der „zweite Ansatz" der Tabelle 6. Die Kontrollen (Gruppe A) wurden bei ihm aus Gründen der Arbeitsökonomie wiederum nicht bonitiert. Bei den Primärgaben von 3,5 bzw. 7 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht erfolgte bei der Gruppe C_{48} wieder keine zuverlässige Depression der Schädigungsintensitäten, offenbar wieder aus dem Grunde, weil sich die kleinen Toxinmengen wegen der Wanderungsverluste nicht gleichmäßig über den gesamten pflanzlichen Körper auszubreiten vermochten.

Bei den primären Toxingaben von 14 und 21 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht ist dagegen in der Gruppe C_{48} die Differenz gegen „nicht vorbehandelt" wieder statistisch gesichert. Desgleichen steigt in der Gruppe C_{48} die durchschnittliche Schädigungsintensität bei den primären Toxingaben von 28 und 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht, wie beim ersten Ansatz, bloß auf jene Schädigungshöhe an, die erreicht worden wäre, wenn die zweite Toxingabe für sich allein, ohne Vorbehandlung, verabreicht worden wäre (1,39 bzw. 1,45 gegen 1,63).

Der „zweite Ansatz" der Tabelle 6 bestätigt somit zum viertenmal in dieser Arbeit, daß schon geringe, deutlich subletale Toxindosen im Innern des Wirtes irgendeine Veränderung bewirken, die zur Folge hat, daß der Wirt auf nachfolgende hohe Toxingaben nicht mehr so heftig anspricht, wie wenn er sie ohne Vorbehandlung zugeführt erhalten hätte. Es scheint also, daß der Desensibilisierungseffekt wirklich zu recht besteht.

4. Kapitel

Das Größenverhältnis zwischen der ersten und der zweiten Toxingabe

Es bleibt nun noch die Frage zu prüfen, in welchem Größenverhältnis die primäre und die überlagernde Toxinmenge ungefähr zueinander stehen müssen, damit ein Desensibilisierungseffekt zustande kommt. Dieser Frage sind wir im sechsten Versuch nachgegangen.

6. Versuch

Versuchsfrage: In welchem Größenverhältnis müssen im Falle des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes die primäre und die überlagernd zugeführte Toxinmenge zueinander stehen, damit ein Desensibilisierungseffekt zustande kommt?

In diesem sechsten Versuch wurden entsprechend seiner besondern Fragestellung nicht nur, wie bisher, die primären, unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse zugeführten Toxinmengen variiert, sondern auch die am folgenden Tage verabreichten überlagernden Toxinmengen. Er wurde in zwei

Wiederholungen während der Monate Juli und August durchgeführt, wobei jede Stufe 20 Versuchspflanzen umfaßte; der erste Ansatz basiert dementsprechend auf 340, der zweite Ansatz auf 380 Versuchspflanzen.

Beim ersten Ansatz (Tabelle 7) erhielten die Tomatensprosse unmittelbar nach dem Abschneiden 20 bzw. 80 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht zugeführt und 24 Stunden später eine zusätzliche Lycomarasmin-Eisen-Menge von 20 bis 160 mg je kg Lebendgewicht. Die Kontrollen erhielten keine Primärgabe, sondern 24 Stunden nach dem Abschneiden nur die als überlagernd gedachten Toxinmengen zugeführt.

Tabelle 7

Der Desensibilisierungseffekt beim äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex bei Verabreichung von variabeln primären und überlagernden Toxinmengen

		Welke-Effekt		
		Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
Sogleich nach dem Abschneiden der Sprosse verabreichte (primäre) Toxinmenge mg/kg	24 Stunden später verabreichte (überlagernde) Toxinmenge mg/kg	nur primäre Toxindosis verabreicht; abgelesen nach 48 Stunden	nur überlagernde Toxindosis (24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse) verabreicht; abgelesen 48 Stunden später	primäre Toxindosis sofort verabreicht, überlagernde Dosis 24 Stunden später; abgelesen 48 Stunden nach Verabreichung der zweiten Dosis
0	20		0,70	
	40		1,35	
	80		2,30	
	120		2,58	
	160		3,00	
20	0	0,83		—
	20			0,88
	40			1,55
	80			2,48
	120			2,76
	160			3,12
80	0	2,64		—
	20			2,24
	40			2,53
	80			2,58
	120			2,63
	160			2,80

Die Gruppen A und B, die nur die primären oder nur die überlagernden Toxindosen verabreicht erhielten, zeigen in Tabelle 7 keine Besonderheiten;

wesentlich ist im vorliegenden Rahmen nur die Gruppe C. Sie läßt erkennen, daß bei den für Tabelle 7 verwendeten Tomatensprossen eine primäre Lycomarasmin-Eisen-Gabe von 20 mg je kg Lebendgewicht noch keinen Desensibilisierungseffekt auslöst; denn die betreffenden C-Werte (0,88 bis 3,12) fallen praktisch gesprochen mit dem A-Wert (0,83) und den B-Werten (0,70 bis 3,00) zusammen. Dieses Ergebnis steht in scheinbarem Widerspruch zu Tabelle 4, bei welcher schon mit primären Lycomarasmin-Eisen-Gaben von 10 und 20 mg je kg Lebendgewicht ein Desensibilisierungseffekt erzielt wurde; die Erklärung liegt darin, daß die Versuche der Tabelle 4 während der Monate Oktober und November durchgeführt wurden, die Versuche der Tabelle 7 dagegen im Juli. Während der Wintermonate sind die Tomatensprosse, wie wir später in einer anderen Arbeit zeigen werden, erheblich toxinempfindlicher als während der Sommermonate, so daß in jenem Zeitabschnitt schon eine Lycomarasmin-Eisen-Menge von 20 mg für die Desensibilisierung der Tomatensprosse ausreicht, während diese Dosis in den Sommermonaten noch unterhalb der Wirkungsschwelle liegt.

Dagegen besteht in Tabelle 7 ein deutlicher Desensibilisierungseffekt bei der primären Lycomarasmin-Eisen-Gabe von 80 mg je kg Lebendgewicht; und zwar lassen die betreffenden Zahlen vermuten, daß die Desensibilisierung auch dann eintritt, wenn die überlagernde Toxingabe erheblich kleiner ist als die primäre Gabe; bei der Primärgabe von 80 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht und der überlagernden Gabe von 20 mg je kg Lebendgewicht ist nämlich die Schädigung mit 2,24 sogar geringer, als wenn nur die Primärgabe von 80 mg verabreicht worden wäre (2,64).

Wenn beide Toxingaben ungefähr gleich groß sind, nämlich die primäre Gabe 80 mg und die überlagernden Gaben 40, 80, 120 und 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht, dann ist die Schädigung mit 2,53 bis 2,80 ungefähr gleich groß, wie wenn nur die primäre Toxingabe für sich allein verabreicht worden wäre (2,64).

Abb. 7 stellt den Sachverhalt graphisch dar. Von den Kontrollen, welche nur die als überlagernd gedachten Toxinmengen zugeführt erhielten (Abszisse 0), bis zur ersten Versuchsstufe (primäre Dosis 20 mg Lycomarasmin-Eisen plus die überlagernde Dosis von 20 bis 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht) steigen sämtliche Kurven ungefähr gleichsinnig an, entsprechend der größeren Toxinmenge, die die Versuchssprosse gegenüber den Kontrollen in Gestalt der Primärgabe von 20 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht zugeführt erhalten haben; ein Desensibilisierungseffekt ist noch nicht zu erkennen. Ein solcher tritt dagegen sehr deutlich bei der Primärgabe von 80 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht zutage, indem sämtliche Kurven im Bereich dieser Primärgabe k o n v e r g i e r e n. Beträgt die Primärgabe 80 mg und die überlagernde Dosis 20 bzw. 40 mg, so steigen die Kurven noch an, wenngleich etwas weniger steil als im Bereich der Primärgaben von 0 und von 20 mg. Bei der Primärgabe von 80 mg und den überlagernden Gaben von 80 bis 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebend-

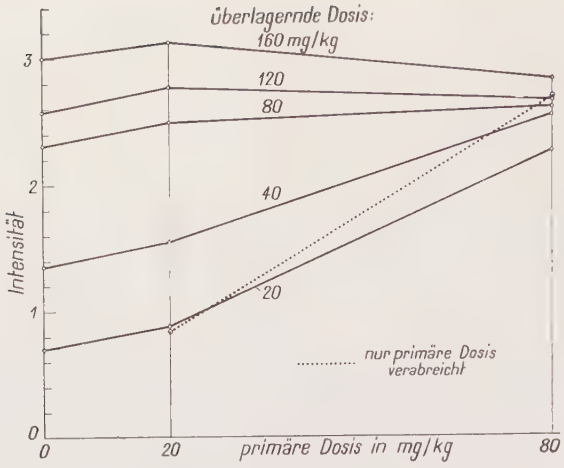


Abb. 7. Der Desensibilisierungseffekt beim äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex. Die Tomatensprosse erfahren nach dem Abschneiden entweder keine Vorbehandlung (Kontrollen) oder erhalten eine Lycomarasmin-Eisen-Menge von 20 bzw. 80 mg je kg Lebendgewicht zugeführt (Abszisse). Die Schädigungswerte der Kontrollen sind unmittelbar auf der Ordinatenachse (d. h. auf der Abzisse 0) abgetragen. 24 Stunden nach dem Abschneiden erhalten die eigentlichen Versuchspflanzen überlagernd noch 20, 40, 80, 120 bzw. 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht zugeführt. Ordinate: Schädigungsintensität 72 Stunden nach Versuchsbeginn, in den Abstufungen von 0 bis 3
Diese Abbildung entspricht der Tabelle 7

gewicht verlaufen dagegen die Kurven ungefähr waagrecht oder sinken sogar etwas ab, d. h. die toxigene Schädigung ist nicht wesentlich größer, wenn die Versuchspflanzen eine Primärgabe von 80 mg plus eine überlagernde Gabe von 80 bis 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht erhalten, als wenn sie nur die Primärgabe erhalten hätten (Desensibilisierungseffekt).

Die Wirkungsschwelle der primären Lycomarasmin-Eisen-Gabe muß demnach bei dem in Tabelle 7 verwendeten Tomatenmaterial zwischen 20 und 80 mg je kg Lebendgewicht liegen. Um diese Spanne noch näher einzugabeln, wurde in Tabelle 8 noch das Intervall von 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht eingeschoben.

Wir sehen: bei den Kontrollen, die nur die als überlagernd gedachte Toxingabe verabreicht erhielten, fällt der 20-mg-Wert mit 0,24 infolge eines Mißgeschickes aus dem Rahmen; im übrigen verlaufen die Werte der Kontrollen normal.

Die primäre Lycomarasmin-Eisen-Gabe von 20 mg je kg Lebendgewicht vermag in Tabelle 8 wieder keine Desensibilisierung einzuleiten; denn die durch die überlagernden Toxingaben von 40 bis 160 mg erzielten Schädigungswerte (1,13 bis 2,63) decken sich vollkommen mit den B-Werten der Kontrollen (1,19 bis 2,53).

Eine deutliche Desensibilisierung läßt sich erst bei der Primärgabe von 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht erkennen; die Primärgabe von 40 mg und die überlagernde Toxingabe von wiederum 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht verursachten keine größere Schädigung (1,35), als wenn nur die primäre Dosis verabreicht worden wäre.

Noch stärker tritt dieser Desensibilisierungseffekt bei der Primärgabe von 80 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht in Erscheinung. Um nur ein Beispiel herauszugreifen: Verabreicht man den Tomatensprossen ohne Vorbehandlung am zweiten Versuchstage 160 mg Lycomarasmin-Eisen

Tabelle 8

Der Desensibilisierungseffekt beim äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex bei Verabreichung von variabeln primären und überlagernden Toxinmengen

Sogleich nach dem Abschneiden der Sprosse verabreichte (primäre) Toxinmenge mg/kg	24 Stunden später verabreichte (überlagernde) Toxinmenge mg/kg	Welke-Effekt Gruppe A: nur primäre Toxindosis verabreicht; abgelesen nach 48 Stunden	Welke-Effekt Gruppe B: nur überlagernde Toxindosis (24 Stunden nach dem Abschneiden der Sprosse) verabreicht; abgelesen 48 Stunden später	Welke-Effekt Gruppe C: primäre Toxindosis sofort verabreicht, überlagernde Dosis 24 Stunden später; abgelesen 48 Stunden nach Verabreichung der zweiten Dosis
0	20		0,24	
	40		1,19	
	80		1,81	
	160		2,53	
20	0	0,62		—
	20			0,78
	40			1,13
	80			1,91
	160			2,63
40	0	1,35		—
	20			1,25
	40			1,35
	80			1,95
	160			2,45
80	0	1,75		—
	20			1,86
	40			1,90
	80			1,91
	160			2,17

je kg Lebendgewicht, so beträgt die durchschnittliche Schädigung 2,53. Verabreicht man ihnen am ersten Versuchstage 20 mg und am folgenden Tage 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht, so beträgt die durchschnittliche Schädigung 2,63; es ist also noch keine Desensibilisierung zu erkennen. Verabreicht man ihnen am ersten Versuchstage 40 mg und am folgenden Tage 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht, so beträgt die durchschnittliche Schädigung 2,45 (Schwellenwert, beginnende Desensibilisierung). Und verabreicht man ihnen am ersten Versuchstage 80 mg und am folgenden Tage 160 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht, so beträgt die durch-

schnittliche Schädigung nur noch 2,17 (starker Desensibilisierungseffekt); die Schädigung ist also kleiner, als wenn die 160 mg Lycomarasmin-Eisen am zweiten Versuchstage ohne Vorbehandlung verabreicht worden wären.

Abb. 8 stellt den Sachverhalt graphisch dar; die starke Konvergenz der Kurven von links nach rechts ist der Ausdruck der erfolgten Desensibilisierung.

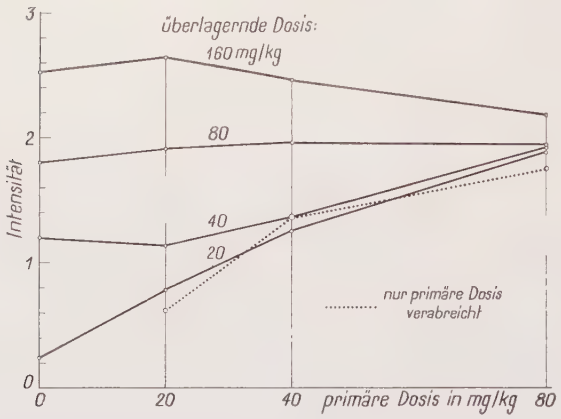


Abb. 8. Der Desensibilisierungseffekt beim äquimolaren Lycomarasmin-Eisen-Komplex. Diese Abbildung entspricht der Tabelle 8. Legende wie bei Abb. 7

Wir dürfen aus den Tabellen 7 und 8 schließen, daß bei dem in Frage stehenden Tomatenmaterial die Desensibilisierungsschwelle bei der Lycomarasmin - Eisen - Gabe von rund 40 mg je kg Lebendgewicht liegt, und daß es keine Rolle spielt, ob die primäre Toxingabe größer oder kleiner ist als die nachfolgende überlagernde Gabe; wesentlich ist nur, daß die Primärgabe den Schwellenwert für die Desensibilisierung überschreitet und ausreicht, um die Vorgänge, die zur Desensibilisierung führen, in die Wege zu leiten.

Die sechs hier besprochenen Versuchsreihen und das übrige, nicht veröffentlichte Tatsachenmaterial führen zu dem Schluß, daß das Verhalten der Tomatensprosse bei zweimaliger Applikation des Lycomarasmins oder des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes vom Ausmaß der primären (als erster verabreichten) Toxinmenge abhängt. Dieses schwankende Verhalten dürfte für das Verständnis der Welkekrankheiten wichtig sein; denn es läßt vermuten, daß ein Wirt unter Umständen auf dieselbe Toxinmenge, die der Erreger einer Welkekrankheit bei einem chronischen Verlauf des Infektes verhältnismäßig spät in ihn ausschüttet, anders anspricht, als wenn er dieselbe Toxinmenge bei einem akuten Verlauf des Infektes gleich zu Anfang der Erkrankung zugeführt erhalten hätte.

Wir möchten im Falle des Lycomarasmins bzw. des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes drei Möglichkeiten besprechen:

a) Primäre Dosis verhältnismäßig klein, überlagernde Dosis beliebig groß;

b) primäre und überlagernde Dosis mittelgroß und

c) primäre Dosis mittelgroß, überlagernde Dosis sehr groß (nahezu letal).

a) Primäre Dosis verhältnismäßig klein, überlagernde Dosis beliebig groß. Gibt man den Tomatenpflanzen im Falle der Tabellen 7 und 8 am ersten Versuchstage 20 mg des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes je kg Lebendgewicht und am folgenden Tage 40 oder mehr mg je kg Lebendgewicht, so passiert nichts, sondern die beiden Schädigungseffekte summieren sich (unterschwellige Primärdosis).

b) Primäre und überlagernde Dosis mittelgroß. Gibt man den Tomatenpflanzen im Falle der Tabellen 7 und 8 am ersten Versuchstage 40 mg des Lycomarasmin-Eisen-Komplexes je kg Lebendgewicht und am folgenden Tage wieder 40 mg, so ist die Schädigung nicht größer, als wenn die 40 mg je kg Lebendgewicht nur einmal verabreicht worden wären. Bei der primären Lycomarasmin-Eisen-Gabe von 40 mg je kg Lebendgewicht wird deshalb der Wirt nicht nur in der üblichen Weise geschädigt; sondern diese Toxinmenge stellt im Falle des Versuchsmateriales der Tabellen 7 und 8 die Schwelle dar, bei deren Überschreiten irgend etwas im Wirte ausgelöst wird, das ihn veranlaßt oder befähigt, auf die nachfolgende mittelstarke Dosis desselben Toxines nicht mehr in einem grobsinnlich erkennbaren Ausmaß zu reagieren; er ist also mit dem Überschreiten des Schwellenwertes irgendwie desensibilisiert worden.

c) Primäre Dosis mittelgroß, überlagernde Dosis sehr groß. Gibt man den Tomatenpflanzen am ersten Versuchstage die kräftige Dosis von 80 mg Lycomarasmin-Eisen-Komplex je kg Lebendgewicht und am folgenden Tage die sehr hohe Dosis von 160 mg je kg Lebendgewicht, dann ist die Schädigung erheblich kleiner, als wenn die sehr hohe Dosis am zweiten Tage ohne Vorbehandlung verabreicht worden wäre; also sind die Pflanzen durch die kräftige Primärdosis von 80 mg noch stärker „aktiviert" worden als durch die mittelstarke Dosis von 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht.

5. Kapitel

Betrachtung der Ergebnisse

Die Quintessenz der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche ist in den folgenden Beobachtungen enthalten:

a) Schneidet man Tomatensprosse ab und stellt sie 24 Stunden in Leitungswasser, so wird während dieser Zeit irgend etwas in ihnen verändert, das sie auf Lycomarasmin stärker ansprechen läßt. Wenn sie nämlich nach Abschluß dieser 24 Stunden 50 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt erhalten, so beträgt der durchschnittliche Welke-Effekt 1,56. Verabreicht man ihnen dagegen diese 50 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht unmittelbar nach dem Abschneiden, so beträgt der durchschnittliche Welke-Effekt nur 0,23 (Tabelle 1). Wir bezeichnen diese

Veränderung, welche die Tomatensprosse im Zustande des Abgeschnittenseins erfahren, als die traumatische Sensibilisierung.

b) Verabreicht man dagegen den Tomatensprossen unmittelbar nach dem Abschneiden (also am ersten Versuchstage) eine bestimmte Lycomarasminmenge und 24 Stunden später (also am zweiten Versuchstage) nochmals eine bestimmte Lycomarasminmenge, so sprechen sie auf diese zweite Lycomarasmingabe schwächer an, als wenn sie sie am zweiten Versuchstage ohne Vorbehandlung zugeführt erhalten hätten.

Wenn z. B. die Tomatensprosse am zweiten Versuchstage ohne Vorbehandlung 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt erhalten, so beträgt der Welke-Effekt nach Tabelle 1 1,94. Wenn sie dagegen am ersten Versuchstage 50 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht und dann am zweiten Versuchstage die 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht zugeführt erhalten, so beträgt die Welke-Intensität nach Tabelle 3 nur noch 1,44. Der durch die Lycomarasmingabe von 150 mg je kg Lebendgewicht ausgelöste Welke-Effekt ist somit erheblich kleiner, wenn die Tomatensprosse am Vortage schon 50 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht verabreicht erhielten, als wenn ihnen die 150 mg ohne Vorbehandlung zugeführt werden. Durch die primäre Toxingabe ist somit die traumatische Sensibilisierung nicht nur aufgehoben worden, sondern es ist überdies irgend etwas im Organismus verändert worden, das ihn auf die erneute Toxingabe schwächer ansprechen läßt als im ursprünglichen Zustande. Wir bezeichnen diese Verschiebung der Reaktionslage, welche durch die primäre Toxingabe ausgelöst wird, als den Desensibilisierungseffekt.

Der Entscheid darüber, ob und in welchem Ausmaß der Desensibilisierungseffekt auftritt, hängt vom Ausmaß der Primärdosis ab. Unterschwellige Primärdosen (so beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex je nach Jahreszeit Primärgaben unterhalb 10 bis 40 mg je kg Lebendgewicht) lösen keine Desensibilisierung des Wirtes aus, sondern die Schädigungsintensitäten der primären und der überlagernden Toxingabe summieren sich in der üblichen Weise. Nach dem Überschreiten der Schwelle scheint dagegen die Desensibilisierung mit dem Ansteigen der Primärgabe in einem gewissen Rahmen zu wachsen. Erhalten die Tomatensprosse am ersten Versuchstage z. B. 40 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht und am folgenden Tage wieder 40 mg, so ist die Schädigung gleichgroß, wie wenn die 40 mg je kg Lebendgewicht nur einmal verabreicht worden wären. Erhalten dagegen die Tomatensprosse am ersten Versuchstage 80 mg Lycomarasmin-Eisen je kg Lebendgewicht und am folgenden Tage 160 mg je kg Lebendgewicht, dann ist die Schädigung kleiner, als wenn die 160 mg am zweiten Tage ohne Vorbehandlung verabreicht worden wären (Tabelle 7 u. 8).

In dem vorliegenden Kapitel soll von der biologischen Bedeutung und vom Mechanismus des Desensibilisierungseffektes die Rede sein.

Die biologische Bedeutung des Desensibilisierungseffektes liegt darin, daß er den Organismus auf eine wiederholte Toxingabe sinn-

gemäß, lebenserhaltend, reagieren läßt, nämlich im Sinne einer Abnahme seiner Bereitschaft, auf eine erneute Toxingabe in einer selbstschädigenden Weise zu antworten. Der Organismus erweist sich also bis zu einem gewissen Grade imstande, gegenüber einer erneuten Toxingabe seine eigene Norm durchzusetzen. Diese Feststellung gilt vorläufig nur für das Lycomarasmin; ob sich Tomatensprosse auch gegenüber anderen Welketoxinen in ähnlicher Weise verhalten, muß erst noch geprüft werden.

Die hier beschriebene Desensibilisierung wirkt sich also in ihrem Effekt mutatis mutandis ähnlich aus wie die Umstimmung des pflanzlichen Organismus zur Frosthärte: ein überraschend hereinbrechender Frost vermag bestimmte Pflanzen zu schädigen; wenn dagegen einige Tage mit weniger tiefen Temperaturen vorangehen, so erfolgt im Organismus eine Umstimmung, die ihn befähigt, die eigentlichen Frosttemperaturen ohne Schädigung zu ertragen. Der pflanzliche Organismus ist somit durch die vorangehenden gemäßigt-tiefen Temperaturen gegen Frost „desensibilisiert" worden.

Im Gegensatz zu dieser Klarheit hinsichtlich des biologischen „Sinnes" der Desensibilisierung ist der Mechanismus, der zur Herabsetzung des Wirkungsgrades der überlagernd verabreichten Toxinmenge führt, noch vollkommen undurchsichtig. Dieser Mechanismus läßt sich nämlich in zwei entgegengesetzten Richtungen suchen:

1. In einer gesteigerten Abwehrbereitschaft der Tomatensprosse, wodurch sie in erhöhtem Maße befähigt werden, das eingebrachte Toxin zu inaktivieren, also es aktiv zu binden, es aktiv unschädlich zu machen; oder
2. in einer erworbenen Toleranz der Tomatensprosse, wobei ihre Empfindlichkeit für das eingebrachte Toxin herabgesetzt, also ihre Fähigkeit zum passiven Ertragen des Toxines gesteigert wird.

Im ersteren Falle verändert der Organismus das eingebrachte Toxin; im zweiten Falle verändert er bloß seine eigene Empfindlichkeit für das eingebrachte Toxin.

§ 1. Die Möglichkeit einer gesteigerten Abwehrbereitschaft des Organismus

Falls ein Warmblüter ein bestimmtes Toxin in der hier beschriebenen Weise zugeführt erhielte, so würde er (falls der eingebrachte Stoff Antigen-Charakter besitzt) neue, spezifisch wirkende, großmolekulare Globuline und ähnliche Stoffe bilden, die als Antikörper wirken und das eingebrachte Toxin unschädlich machen. Bei der Betrachtung der Möglichkeit einer gesteigerten Abwehrbereitschaft der Tomatensprosse müssen wir uns jedoch von diesen medizinischen Vorstellungen über Immunisierung und Immunität freihalten; denn wir besitzen keine Anhaltspunkte für die Bildung derartiger spezifischer Antikörper im pflanzlichen Organismus (seien

sie nun eiweißlicher oder anderer Natur), und ihre Bildung ist auch aus zeitlichen Gründen kaum zu erwarten; hierfür ist die Frist von 24 Stunden zu kurz.

Dennoch bleibt die Tatsache bestehen, daß die primäre Toxingabe irgendwelche Umsetzungen im pflanzlichen Organismus einleitet, die es ihm ermöglichen, die nachfolgende Toxingabe bis zu einem gewissen Grade aufzufangen; und da aus zeitlichen Gründen nicht die Bildung neuer, spezifischer Antikörper in Frage kommen kann, so muß es sich bei diesen Abwehrreaktionen um unspezifische Vorgänge handeln, die auch normalerweise in den Zellen abrollen und dann durch die primäre Toxingabe intensiviert werden (Verstärkertheorie).

Leider ist das Lycomarasmin für derartige spekulative Überlegungen wenig geeignet, weil wir seinen Wirkungsmechanismus noch nicht kennen; dagegen können wir uns an Hand des Patulins, eines andern Welketoxines, einige Gedanken über die Vorgänge machen, die gegebenenfalls zu einer Abnahme des Wirkungsgrades der überlagernd verabreichten Toxingabe führen.

Für das Patulin wurde nämlich durch REUSSER (1952) gezeigt, daß es die Glukose-Veratmung der Hefezellen in zwei Phasen hemmt:

in einer ersten Phase, d. i. während der ersten zwei Stunden nach der Giftzugabe, hemmt es die O_2-Aufnahme bzw. die CO_2-Abgabe abhängig von der verabreichten Konzentration, in Übereinstimmung mit dem Massenwirkungsgesetz;

in einer zweiten Phase nimmt die Hemmung, nach Erreichung eines bestimmten Gleichgewichtszustandes, nur noch sehr langsam zu, wobei die Zunahme offenbar mit der Diffusion des Patulins in das Innere des Plasmas in Zusammenhang steht.

Da das Patulin eine starke Affinität zu den SH-Gruppen besitzt, so ist die folgende Hypothese denkbar: In der ersten Phase werden rasch die für die Atmung wichtigen SH-Gruppen an der Oberfläche der Zelle besetzt und sodann in der zweiten Phase langsam die im Innern des Plasmas befindlichen SH-Gruppen; dabei werden aber aus den -S-S-Brücken stets neue SH-Gruppen gebildet (Gleichgewicht -S-S $\rightleftharpoons$ -SH), wodurch sich der atmungshemmende Effekt des Patulins noch mehr verlangsamt.

Falls nun die in der vorliegenden Arbeit für das Lycomarasmin festgestellte Desensibilisierung auch für das Patulin gelten würde, so könnte man nach REUSSER zwei Hypothesen, eine statische und eine dynamische, aufstellen.

a) Statische Vorstellung. Bei der ersten Vergiftung durch eine gegebene, begrenzte Patulindosis wird das Patulin in den peripheren Bezirken der Zelle durch freie SH-Gruppen fixiert (es ist z. B. nachgewiesen worden, daß die 50 %ige Gaswechselhemmung der Hefezellen bei jeder

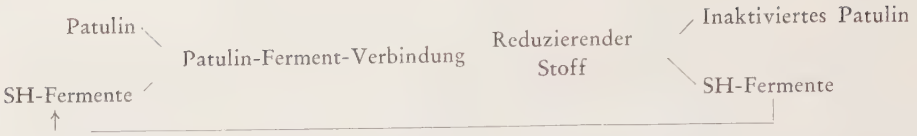
Patulinkonzentration durch dieselbe Patulinmenge verursacht wird). Die Zellen suchen jedoch ihre normale Funktion aufrechtzuerhalten (Redoxpotential), indem sie das Gleichgewicht -S-S $\rightleftarrows$ -SH wieder herstellen. Der Ort der auf diesem Wege neu gebildeten SH-Gruppen könnte vielleicht tiefer im Plasma und deshalb für das Gift schwerer erreichbar liegen, so daß die durch die zweite Toxingabe ausgelöste Schädigung aus topographischen Gründen geringer ausfällt.

Wird dagegen sämtliches Gift in einer Dosis verabreicht, so kann sich die Zelle nicht zwischenhinein „erholen"; die toxigene Schädigung macht sich infolgedessen in unverminderter Stärke geltend.

b) Dynamische Vorstellung. Da das Patulin vor allem die freien SH-Gruppen der Fermente blockiert, so wird es seinerseits auf fermentativem Wege inaktiviert. Freerksen und Bönicke (1951) haben z. B. gezeigt, daß das Patulin durch Blutserum (in verschiedenem Maße bei verschiedenem Tierblut) und durch Gewebebrei inaktiviert wird, und zwar geschieht die Inaktivierung optimal bei den für die Fermentaktivität optimalen Bedingungen. Werden z. B. die Serumfermente durch Erhitzen auf über 50 ° C denaturiert, so erfolgt durch das Serum keine Inaktivierung des Patulins mehr.

Man könnte sich nun eine fermentative Inaktivierung des Patulins derart vorstellen, daß die primäre Patulindosis in den Zellen die Disposition zu einer fortlaufenden Inaktivierung schafft. Das Patulin trifft ja in einer Fermentkette jene Fermente, die SH-Gruppen tragen; dadurch wird zunächst das System selbst blockiert und wird anderseits auch das hierfür beanspruchte Patulin inaktiviert. Nun bilden sich aber infolge der Tendenz des Organismus, sein Gleichgewicht aufrechtzuerhalten, mutmaßlicherweise aus -S-S-Verbindungen neue SH-Gruppen tragende Körper; ferner könnte eine Umgestaltung in den Fermentsystemen und den Milieubedingungen der Zelle (Redoxpotential, pH, Konzentrationsverhältnisse) erfolgen, die dann erlauben würde, zusätzlich weiteres Patulin zu inaktivieren. Diese Umgestaltung benötigt aber eine gewisse Zeit (Induktionszeit, für welche die 24 Stunden, welche nach unserer Versuchsanordnung zur Verfügung stehen, ausreichen würden).

Wird dann die zweite Patulindosis verabreicht, so findet sie in den Zellen eine für die fortlaufende Inaktivierung günstige Disposition. Stellt man sich die Inaktivierung so vor, daß sie durch die Öffnung des Laktonringes des Patulins durch die SH-Gruppe geschieht, so wäre es möglich, daß das reaktionsfähigere unveränderte Patulin (mit einem geschlossenen Laktonring) die durch die SH-Fermente geöffnete und dadurch inaktivierte Verbindung stets an den SH-Körpern verdrängt, wenn diese SH-Gruppen selbst sich ständig unter dem Einfluß eines reduzierenden Stoffes zu regenerieren versuchen, etwa nach dem folgenden Schema:



Da die Arbeitsgeschwindigkeit bei allen derartigen fermentativen Vorgängen begrenzt ist, bleibt ein Überschuß an Patulin bestehen, der nicht sogleich desaktiviert wird, sich deshalb weiter im Organismus ausbreitet und dadurch sukzessive neue Schädigungen hervorruft. Auf Grund dieser Arbeitshypothese ließe es sich verstehen, daß

1. die überlagernd verabreichte Toxindosis geringere Schädigungen auslöst, und
2. daß mit zunehmender Primärdosis der Wirkungsgrad der überlagernden Toxindosis abnimmt; denn je umfassender durch die Primärdosis die Disposition für die langsam verlaufende fermentative Inaktivierung des Patulins geschaffen wird, desto umfassender gestaltet sich nachher in einem gewissen Rahmen auch der Inaktivierungserfolg.

Würde dagegen sämtliches Gift auf einmal verabreicht, so wäre der lebende Organismus im Sektor der SH-Gruppen und der -S-S-Reserven derart erschöpft, daß er sich nicht mehr zu regenerieren vermag; deshalb fällt der toxigene Effekt bei einer einmaligen Applikation des Toxines verhältnismäßig größer aus, als wenn dieser Applikation noch eine gewisse Primärdosis vorangeht.

Dieser Versuch, den Desensibilisierungseffekt auf Grund einer stets sich erneuernden Blockierung von SH-Gruppen zu deuten, ist selbstverständlich rein spekulativer Natur; denn wir wissen nicht, ob die dabei gemachten Voraussetzungen für das Lycomarasmin zutreffen; und das experimentum crucis, Tomatensprosse gegen Patulin zu desensibilisieren und dann den wachsenden Inaktivierungseffekt unmittelbar am Preß-Saft selbst zu überprüfen, läßt sich aus t e c h n i s c h e n Gründen kaum durchführen. Patulin schädigt nämlich in besonderem Maße die L e i t u n g s b a h n e n , so daß es im gegebenen Falle schwierig ist zu entscheiden, welcher Anteil eines vermeintlichen Desensibilisierungseffektes auf eine Reaktion des gesamten Organismus entfällt und welcher Anteil auf eine bloße Schädigung der Leitungsbahnen. Es kommt uns deshalb bei dem vorliegenden Erklärungsversuch nur darauf an, unabhängig von Lycomarasmin und Patulin zu zeigen, daß es prinzipiell m ö g l i c h ist, sich auch im pflanzlichen Körper stetig verlaufende Reaktionsketten vorzustellen, die nach Art der adaptiven Enzyme in steigendem Maße zu einer Desaktivierung von Welketoxinen führen können.

Wir denken somit bei diesen pflanzlichen Abwehrreaktionen an ganz andere Mechanismen als sie in der klassischen Antikörperbildung der Warmblüter bekannt sind (z. B. SEVAG, 1945); wir denken an Reaktionen, die n i c h t zur Bildung von spezifischen, zielgerichteten, ad hoc erzeugten Anti-

körpern führen, sondern als unspezifische Reaktionsketten auch im normalen Stoffwechsel der Zelle abrollen, aber durch das eingebrachte Toxin intensiviert werden. Die betreffenden Reaktionen wären demnach in ihrem Mechanismus nicht spezifische Abwehrreaktionen, aber sie führen in ihrer Auswirkung zu einem Abwehrerfolg.

§ 2. Die Möglichkeit einer erworbenen Toleranz

Umstimmungen des pflanzlichen Organismus, die zu einer erhöhten Toleranz führen, sind bei einigen Virosen bekannt (z. B. GÄUMANN, 1951, S. 451). Gewisse Pflanzen können nämlich ihre Reaktionslage im Verlaufe bestimmter Virosen in dem Sinne ändern, daß sie zwar das Virus nach wie vor in voller Infektiosität in sich tragen, aber auf seine Gegenwart nicht mehr antworten, nicht mehr ansprechen: sie sind gegen das Virus „tolerant" geworden. Ein anderes Phänomen, das eine induzierte Toleranz vortäuschen kann, besteht bei den Bakteriophagen; wenn in einer Bakteriensuspension sämtliche Haftpunkte besetzt sind, so vermag eine neue Bakteriophagendosis den lytischen Effekt nicht mehr zu steigern.

Eine induzierte Toleranz gegen Giftstoffe ist dagegen weder im Pflanzenreich noch in der Humanmedizin bekannt; denn bei den zwei „klassischen" Beispielen der Humanmedizin, die gerne als Beweis für das Bestehen einer Umstimmung des Organismus angerufen werden, beim chronischen Arsenesser und beim trinkfest gewordenen Alkoholiker, liegt die vermeintliche „Umstimmung" auf einer andern Ebene; der chronische Arsenesser gewöhnt nämlich seinen Organismus nicht an das Arsen als solches, sondern er nimmt es infolge einer chronischen Entzündung seines Intestinalapparates einfach nicht mehr auf; und bei der erworbenen Trinkfestigkeit scheint es sich eher um eine Gewöhnung des Individuums an die Symptome der Alkoholvergiftung, also um eine psychische Abstumpfung zu handeln als um eine physiologische Gewöhnung des Organismus an den Alkohol.

Trotz dieser ungünstigen Auspizien möchten wir die Möglichkeit einer induzierten Toleranz gegen Giftstoffe nicht von der Hand weisen. Einmal aus philosophischen Erwägungen: Nachdem es im Pflanzen- und Tierreich Allergien gibt, muß es auch ihr Gegenteil, eben die induzierte Toleranz, geben können. Ferner bleibt zu bedenken, daß ein Toxin nur dort und nur so lange zu wirken vermag, als entsprechende Rezeptoren zur Verfügung stehen; nach Absättigung dieser Rezeptoren führt eine erneute Toxingabe nicht mehr zu einer Steigerung des Erfolges; so ließ sich auch im vorstehend beschriebenen dritten Versuch der Welke-Effekt nicht über ein bestimmtes Maß hinaus steigern, weil das physiologisch mögliche Schädigungsmaximum bereits erreicht war.

Die erworbene Toleranz würde also in diesem Falle ähnlich gelagert sein wie in dem oben angedeuteten Bakteriophagenbeispiel: Der Organismus läßt sich symptomlos von weiteren Toxinmengen überschwemmen, weil in ihm keine reaktionsfähigen Haftpunkte mehr zur Verfügung stehen. Der Wirkungsgrad wiederholter Toxingaben müßte unter diesen Umständen mit der wachsenden Absättigung der Rezeptoren allmählich abnehmen, wie dies in den oben besprochenen Versuchen 3 bis 6 tatsächlich der Fall ist.

Leider läßt es sich zur Zeit nicht entscheiden, auf welcher Grundlage die hier dargestellten Desensibilisierungseffekte gedeutet werden müssen, ob auf Grund einer gesteigerten Abwehrbereitschaft des Organismus oder auf Grund einer echten oder vorgetäuschten induzierten Toleranz. Persönlich glauben wir, daß die in § 1 unter b) entwickelte Vorstellung einer stets sich erneuernden fermentativen Inaktivierung des Toxines das Richtige trifft; doch ist das nur ein credo.

Zusammenfassung

1. Die Empfindlichkeit von Tomatensprossen für Lycomarasmin, ein Welketoxin des *Fusarium lycopersici*, ist verschieden je nach dem Zeitpunkt, in welchem das Toxin nach dem Abschneiden der Sprosse auf sie einzuwirken beginnt. Die Tomatensprosse erfahren nämlich im abgeschnittenen Zustande eine traumatische Sensibilisierung für Lycomarasmin.

2. Erhalten dagegen die Tomatensprosse unmittelbar nach dem Abschneiden (also am ersten Versuchstage) eine gewisse Lycomarasminmenge zugeführt und 24 Stunden später (also am zweiten Versuchstage) eine weitere Lycomarasminmenge, so wird die traumatische Sensibilisierung nicht nur rückgängig gemacht, sondern die Tomatensprosse sprechen auf die zweite Toxingabe sogar schwächer an, als dies ohne Vorbehandlung geschehen wäre.

3. Wir bezeichnen diese Erscheinung, um für sie einen Namen zu haben, als den Desensibilisierungseffekt.

4. Der Desensibilisierungseffekt tritt erst ein, wenn das Ausmaß der Primärgabe einen bestimmten Schwellenwert überschreitet; unterhalb dieses Schwellenwertes erfolgt keine Desensibilisierung des Wirtes, sondern die Schädigungsintensitäten der primären und der überlagernden Toxingabe summieren sich in der üblichen Weise. Beim Lycomarasmin-Eisen-Komplex liegt die Schwelle für die Primärgabe je nach Jahreszeit bei 10 bis 40 mg je kg Lebendgewicht.

5. Es scheint, daß der Desensibilisierungseffekt nach Überschreiten des Schwellenwertes mit der Zunahme der Primärdosis wächst.

6. Es wird versucht, am Modellbeispiel des Patulins eine Vorstellung von dem Mechanismus der Desensibilisierung zu gewinnen; sie könnte beispielsweise in einer fortlaufenden fermentativen Desaktivierung des Toxines durch SH-Gruppen bestehen, die sich aus -S-S-Brücken stetig erneuern. Die Desensibilisierung würde also durch unspezifische Vorgänge bewirkt, die auch im normalen Stoffwechsel der Zelle abrollen, aber nach Art der adaptiven Enzyme durch das eingebrachte Toxin intensiviert werden. Die betreffenden Reaktionen wären demnach in ihrem Mechanismus nicht spezifische Abwehrreaktionen im Sinne der Humanmedizin, aber sie führen in ihrer Auswirkung zu einem Abwehrerfolg.

Anmerkung bei der Korrektur

Während der Drucklegung wurden wir auf eine Arbeit von Robertson und Blackman in Nature, 170, 13. Sept. 1952, S. 459, aufmerksam gemacht, die an einem anderen Objekt mit einem anderen Toxin ähnliche Desensibilisierungseffekte beobachtet haben. Sie kultivierten *Lemna minor* in Nährlösungen, die bestimmte Mengen von 2-4-D (2-4-Dichlorphenoxyessigsäure) enthielten. Ohne Vorbehandlung lag die LD_{50} bei einem Toxingehalt von 81 Teilen je Million, also bei einer Konzentration von rund $0{,}4 \cdot 10^{-3}$ molar. Wurden dagegen die Pflanzen in den vorangehenden 24 Stunden in Lösungen mit einem Toxingehalt von 2,5, 10 bzw. 40 Teilen je Million gezogen, so stieg die LD_{50}-Grenze auf 91, 116 bzw. 193 Teile je Million. Die Widerstandsfähigkeit gegen die nachfolgende höhere Toxinkonzentration wurde somit durch die Vorbehandlung mit einer schwächeren Toxinkonzentration erhöht. Dieser desensibilisierende Effekt wird nicht nur durch das 2-4-D selbst ausgelöst, sondern auch durch 2-Methyl-4-chlorophenoxyessigsäure, 2-4-Dinitro-ortho-cresol und durch Kupfersulfat. Er ist somit unspezifisch.

Die Deutung dieser Versuche stößt auf Schwierigkeiten, da wir nicht wissen, welche Toxinmengen von den Pflanzen wirklich aufgenommen worden sind; man könnte ja auch an einen bloß die Plasma-Oberfläche abdichtenden Effekt der primären Toxingabe denken, ähnlich dem Pyramidon in der Humanmedizin.

Literaturverzeichnis

Freeriksen E. und Bönicke, R., 1951. Die Inaktivierung des Patulins in vivo. Zschr. f. Hygiene, **132**, 274—291.

Gäumann, E., 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— und Jaag, O., 1947. Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **57**, 3—34, 132—148, 227—241.

—, Naef-Roth, St. und Miescher, G., 1950. Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Zschr., **16**, 257—288.

Reusser, P., 1952. Über den Einfluß von Patulin auf den Gaswechsel der Hefezellen. Phytopath. Zschr., **19**, 221—265.

Sevag, M. G., 1945. Immuno-catalysis. Thomas Co., Springfield, Ill. 272 S.

Aus der Biologischen Zentralanstalt für Land und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem, Abteilung für Mykologie

Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K.

Von
H. Richter und R. Schneider

Mit 23 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Das Untersuchungsmaterial. — C. Anastomosengruppen. — D. Morphologische Untersuchungen. 1. Hyphenmessungen. 2. Morphologische Gruppen. — E. Physiologische Untersuchungen. 1. Wachstumsgeschwindigkeit. 2. Temperaturansprüche. 3. Reaktion des Nährsubstrates. 4. Rückblick auf die Ergebnisse. — F. Pathogenität der Pilzstämme. I. Infektionsversuche an Keimpflänzchen. 1. Infektionsversuche I. 2. Infektionsversuche II. II. Infektionsversuche an Kartoffeltrieben. 1. Versuchsanstellung. 2. Befallsformen bei „Kartoffel"- und „Nichtkartoffelstämmen". 3. Die Pathogenität der „Kartoffelstämme". 4. Die Pathogenität der „Nichtkartoffelstämme". 5. Besprechung der Ergebnisse und Vergleich mit den Befunden anderer Autoren. III. Infektionsversuch an Gewebestücken der Kartoffelknolle. — G. Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Einleitung

Die Frage nach dem Vorkommen von weiteren Individuengruppen (systematischen Einheiten) innerhalb der Species *Rhizoctonia solani* K. ist, seitdem Duggar (1909) die Vermutung erstmalig ausgesprochen hatte, immer wieder gestellt worden und dürfte zur Zeit als kaum noch umstritten gelten. Die einschlägige Literatur enthält indessen heute die widersprechendsten Angaben über Unterarten, biologische und physiologische Rassen, physiologische und morphologische Formen und Typen, über qualitative und quantitative Unterschiede in der Aggressivität, morphologische und physiologische Verschiedenheiten von Einzelstämmen und Stammgruppen von gleicher und verschiedener Herkunft, daß weitere Untersuchungen in dieser Richtung erforderlich schienen. Die ältere Literatur (Angaben bis 1930) ist in der Monographie von Braun (1930) ausführlich dargestellt worden, so daß an dieser Stelle der Hinweis darauf genügt. Braun kommt zu dem Ergebnis, daß an dem Vorkommen von biologischen Rassen nicht gezweifelt werden kann. In neuerer Zeit ist dieses Thema hauptsächlich in der amerikanischen Literatur behandelt worden. Le Clerg (1934), Sanford (1938), Sprague (1947), Boosalis (1950) vertreten die Ansicht, daß physiologische Rassen von *Rhizoctonia solani* existieren. Edwards und Newton (1937) unterscheiden verschiedene physiologische Formen. Person (1944) spricht von Stammgruppen, „clear-cut groups" („when bean used as the test host, four rather clear-cut groups of isolates were distinguished on the basis of pathogenicity" [p. 1067]). Ganz ähnlich äußert sich Flentje (1950): „From a wide range

of isolates one can sort out certain groups of the fungus and label them as belonging to the crucifer type, that is they actively cause damping off in crucifer seedlings and so on for other groups." HOUSTON (1945) differenziert aus 260 Stämmen von 15 verschiedenen Wirtspflanzen auf Grund von morphologischen Merkmalen, Wachstumsunterschieden und Unterschieden in der Pathogenität drei verschiedene Typen. SCHULTZ (1936) kommt, indem er neben morphologischen und physiologischen Unterscheidungsmerkmalen als differenzialdiagnostisches Kriterium die Fähigkeit der Pilzstämme miteinander Anastomosen zu bilden, heranzieht, zur Aufstellung von fünf Stammgruppen, die er als Varietäten unterscheidet. Die vorliegenden, auf möglichst breiter Basis aufgebauten eigenen Untersuchungen sollen einen weiteren Beitrag zu diesem Thema liefern.

B. Das Untersuchungsmaterial

Von entscheidender Bedeutung für derartige Untersuchungen ist die Breite und Reichhaltigkeit des Versuchsmaterials in bezug auf Wirtspflanzenkreis und geographische Herkunft. Wenn man sich allerdings klarmacht, daß, nach BRAUN (1930 S. 23), *Rhizoctonia solani* auf mindestens 230 Species, die sich auf 66 Pflanzenfamilien verteilen, vorkommt und praktisch in allen Klimazonen und auf allen Erdteilen verbreitet ist, dann erscheint die Forderung zwar um so mehr berechtigt, aber praktisch in einem so kurzen Zeitabschnitt wie er normalerweise für Versuchszwecke zur Verfügung steht, doch immer nur bedingt realisierbar zu sein. Das eigene Versuchsmaterial ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Es umfaßt zur Zeit 176 Stämme von 45 Wirtsspecies aus 24 Pflanzenfamilien. Die einzelnen Stämme wurden wegen der außerordentlich weiten geographischen Verbreitung des Pilzes außer in den verschiedenen Gegenden Deutschlands und Ländern Europas auch von anderen Erdteilen wie Nord- und Südamerika, Australien, Asien bezogen[1]). Das gilt im besonderen für die von der Kartoffel isolierten Herkünfte, die zahlenmäßig mit 85 etwa die Hälfte des Versuchsmaterials ausmachen.

C. Anastomosengruppen

Durch Untersuchungen von LAIBACH (1928) und KÖHLER (1929 und 1930) u. a. ist erwiesen, daß eine Anzahl von Pilzen, darunter auch *Rhizoctonia solani* (KÖHLER 1929), nicht nur die Fähigkeit besitzen, innerhalb des eigenen Myzels vegetative Anastomosen zu bilden, sondern auch im Stande sind, überindividuelle Fusionen einzugehen. KÖHLER (1930) stellte fest, daß die dem Fusionsgang vorausgehenden „telemorphotischen" und „zygotropischen" Wachstumsreaktionen in abgeschwächter Form sich auch noch zwischen artverschiedenen Pilzen der gleichen bzw. auch einer fremden Gattung abspielen können. Plasmafusionen zwischen artverschiedenen Myzelien sind in-

[1]) Frau Dr. GROSSBARD, London, und den Herren Dr. BREMER, Neuß, Dr. W. BRUEHL, Brookings, Dr. LUDBROOK, Canberra, G. MINZ, Rehovot, Prof. Dr. K. O. MÜLLER, z. Z. Cambridge, Dr. REITSMA, Buitenzorg, Prof. Dr. REINKING, Geneva, Dr. RIGOT, Belgien, Dr. R. S. VASUDEVA, New Delhi, Dr. VENKATARAMANI, Nilgiris, Dr. WILLE, Lima, die uns bereitwilligst Untersuchungsmaterial zur Verfügung gestellt haben, sei auch an dieser Stelle gedankt.

dessen nicht beobachtet worden. Auf Grund dieses Befundes kommt Köhler (1930, S. 520) zu dem Ergebnis, daß die von den einzelnen Pilzen ausgehenden Wirkungen und Gegenwirkungen spezifischer Art sind: „Jede Art sendet ihre spezifischen Reize aus und reagiert nur auf diese mit normaler Intensität, auf die entsprechenden Reize anderer Arten antwortet sie nur schwach oder überhaupt nicht, und wir müssen annehmen, daß es ebenso viele spezifische Reize wie Arten gibt." Nach Feststellungen von Laibach (1919) an *Septoria apii*, von Matsumoto (1921) an *Rhizoctonia solani* und von Forsteneichner (1931) an *Rhizoctonia gossypii* sind nicht einmal alle zu der betreffenden Art gehörigen Stämme dazu befähigt, miteinander Anastomosen zu bilden. Wenn wir nach dem oben Gesagten annehmen dürfen, daß Plasmafusionen nur zwischen Partnern stattfinden, die in einer nahen verwandtschaftlichen Beziehung zueinander stehen, so war damit wahrscheinlich gemacht, daß innerhalb der betreffenden Arten noch engere Verwandtschaftskreise existieren. Schultz (1936) konnte dann aufzeigen, daß von Kartoffel isolierte *Rhizoctonia*-Herkünfte und „Vermehrungspilzstämme", zwischen denen nach seiner Meinung in morphologischer und physiologischer Hinsicht Unterschiede nicht bestehen, nur innerhalb bestimmter Gruppen miteinander fusionieren; und zwar wurde Anastomosenbildung nur zwischen Stämmen innerhalb jeder Gruppe festgestellt, niemals aber zwischen Stämmen, die zu verschiedenen Gruppen gehörten. Auf Grund der Fähigkeit der überindividuellen Anastomosenbildung der Stämme stellte Schultz fünf Fusionsgruppen auf. Der von ihm eingeschlagene Weg, das Pilzmaterial mit Hilfe „der Anastomosierung der Stämme" systematisch zu gliedern und in natürliche, engste Verwandtschaftsverhältnisse der Stämme wiedergebende Gruppen aufzuteilen, ist von größter praktischer Bedeutung; da alle Bemühungen und Versuche, eine Differenzierung der Stämme auf Grund von morphologischen, physiologischen oder auch pathologischen Merkmalen durchzuführen, bei *Rhizoctonia solani* wegen der sehr erheblichen Variabilität der Stämme bzw. der ausgeprägten Plurivorie des Pilzes in den meisten Fällen nicht zu befriedigenden Ergebnissen führen (Braun 1930). Aus diesen Erwägungen heraus schien es zweckmäßig, unsere *Rhizoctonia*-Stämme zunächst auf ihre Fähigkeit, miteinander Anastomosen zu bilden, zu prüfen, um sie dann in entsprechenden Gruppen zusammenzufassen.

Diese Untersuchungen wurden an Dünnschichtkulturen vorgenommen. Ihre Herstellung erfolgte wie bei Köhler (1930, S. 497) und Schultz (1936, S. 16) angegeben, in der Weise, daß sterile Objektträger in den verflüssigten Nährboden [Würzeagar bzw. Leitungswasseragar[1])] getaucht und anschließend sofort in sterile Petrischalen auf eine mehrfache mit sterilem Leitungswasser getränkte Schicht Fließpapier übertragen wurden. Die Objektträger wurden durch Auflegen von kreisrunden Myzelstücken von 0,8 cm Durchmesser im Abstand von 4 bis 5 cm mit je zwei Stämmen beimpft und anschließend im Thermostaten bei 26 ° C zweieinhalb bis drei Tage bebrütet. Dann waren die Myzelien soweit aufeinander zugewachsen, daß sich die

[1]) Leitungswasseragar wurde verwendet, wenn Stämme geprüft wurden, die ein besonders reichverzweigtes und verästeltes Myzel oder enggegliederte Seitenhyphen besitzen.

Randhyphen gegenseitig durchdrangen. In diesem Stadium wurden die Objektträger zur mikroskopischen Untersuchung aus den Feuchtkammern entnommen. Positive Kombinationen anastomosierender Stämme konnten übrigens von dem geschulten Auge auch schon makroskopisch an der gegenseitigen Ablenkung der Hyphen aus ihrer ursprünglichen Wachstumsrichtung erkannt werden.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 1 verzeichnet. Es konnten sechs Fusionsgruppen (Gruppe A bis F) aufgestellt werden. In keine von diesen Gruppen ließen sich die in der uneinheitlichen „Restgruppe" vereinigten Stämme unterbringen, die der Vollständigkeit halber ebenfalls in Tabelle 1 aufgeführt ist.

Tabelle 1

Die auf Grund der Anastomosenbildung der Stämme aufgestellten Fusionsgruppen

Gruppe A

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
I 24 a	A 1	*Vitis vinifera*, Sä. Umfallkrankheit	Naumburg/Saale 1933
I 49	A 2	*Coleus hybridus*, St. Stengelfäule	Berlin-Britz 1934
I 57	A 3	*Campanula*, Sä. Stengelfäule	Berlin-Friedrichsfelde 1934
NB 1	A 4	*Ornithopus sativus*, Sä. Umfallkrankheit	Neu-Buslar/Pommern 1943
K 3	A 5	*Hydrangea hortensis*, St. Stengelfäule	Berlin-Köpenick 1941
D 235	A 6	*Medicago sativa*, Sä. Umfallkrankheit	Berlin-Dahlem 1941
7384	A 7	*Piper nigrum*	Buitenzorg/Java 1949
7417*)	A 8	*Maranta arundinacea*	Madras/Vorderindien 1950
7415	A 9	*Pilea* Blattbefall	Berlin-Dahlem 1950
7380	A 10	*Cichorium endivia* Blattbefall	Patjet/Java 1949

Abkürzungen: Sä. = Sämling; St. = Steckling; Tr. = Trieb; W. = Wurzel; WH. = Wurzelhals; Kn. = Knolle.

*) Dieser Stamm wurde uns als *Pellicularia filamentosa* übersandt. (Zu *Pellicularia filamentosa* siehe ROGERS, D. P.: The genus *Pellicularia [Telephoraceae]*. FARLOWIA 1, 1943, 95—118, und HOUSTON (1945, p. 373): „Rogers has included *Corticium solani* and several other related fungi under the binominal *Pellicularia filamentosa* (Pat.) Rogers.")

Gruppe B

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
Mt 4	B 1	*Lupinus luteus*	Marquardtsthal/Brandenbg. 1941
L 15 b	B 2	*Lupinus luteus*	Leichhardt/Brandenburg 1941
Kl 53	B 3	*Lupinus spec.* Fußkrankheit	Kleinbeeren/Brandenburg 1941
D 52	B 4	*Lupinus angustifolius*	Berlin-Dahlem 1941
D 17	B 5	*Lupinus angustifolius*	Berlin-Dahlem 1939
D 56	B 6	*Lupinus luteus* Umfallkrankheit	Berlin-Dahlem 1939
D 94	B 7	*Ornithopus sativus* Umfallkrankheit	Berlin-Dahlem 1942
D 95	B 8	*Ornithopus sativus*	Berlin-Dahlem 1942
H 851	B 9	*Solanum tuberosum* Triebfäule	Bürs-Arneburg/Sachsen-Anh. 1948
Ph 2	B 10	*Taraxacum koksaghys* Welke und Verbräunung des Zentralzylinders	Paulshuben 1942
7442	B 11	*Avena sativa*	Süd-Ost-Dakota/USA 1951
7292	B 12	*Lupinus spec.*	1948
		Gruppe C	
D 46	C 1	*Pisum arvense*, Sä.	Berlin-Dahlem 1943
D 47	C 2	*Pisum arvense*, Sä.	Berlin-Dahlem 1943
D 70	C 3	*Ornithopus sativus*, Sä. Umfallkrankheit	Berlin-Dahlem 1941
D 82	C 4	*Ornithopus sativus*	Berlin-Dahlem 1941
7344	C 5	*Phaseolus vulgaris* (Bohnensaat)	Kalifornien/USA 1949
7327	C 6	*Achillea* Fußkrankheit	Ankara/Türkei 1949
7345	C 7	*Kalanchoë Blossfeldiana* Stengelfäule	Berlin-Weißensee 1949
7391	C 8	*Cucumis sativus*, Sä. Umfallkrankheit	Rehovot/Israel 1949
7393	C 9	*Anona*, W.	Rehovot/Israel 1949

Gruppe C (Fortsetzung)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
7398	C 10	*Pisum sativum* Fußkrankheit	Kiel 1949
Pe 3	C 11	*Lupinus albus* Fußkrankheit	Petkus/Brandenburg 1939
IV 47	C 12	*Hydrangea hortensis* Stengelfäule	Berlin-Britz 1934
IV 10	C 13	*Gramineae* (Grassaat)	1931
D 63	C 14	*Lupinus polyphyllus*	Berlin-Dahlem 1941
7334	C 15	*Solanum tuberosum* Sklerotien	Geneva/USA 1949
7368	C 16	*Beta vulgaris* var. *rapa*	Maffra/Australien 1947
7402	C 17	*Gloxinia* Blattbefall	Berlin-Buchholz 1950
7394	C 18	*Solanum tuberosum* Triebfäule	Rehovot/Israel 1949
7412	C 19	*Pirus malus*, St. Stengelfäule	Berlin-Dahlem 1950
7424	C 20	*Sesamum indicum*	New Delhi/Vorderindien 1950
7418	C 21	*Solanum lycopersicum*, Sä. Umfall- oder Fußkrankheit	Vorderindien 1950
7428	C 22		New Delhi/Vorderindien 1951
7438	C 23	*Hordeum vulgare*	Süd-Dakota/USA 1951
7441	C 24	*Hordeum vulgare*	Minnesota/USA 1951
7443	C 25	*Triticum aestivum*	Süd-Ost-Dakota/USA 1951
7444	C 26	*Hordeum vulgare*	Süd-Ost-Dakota/USA 1951
7446	C 27	*Triticum aestivum*	Süd-Dakota/USA 1951
7429	C 28	*Elettaria cardamomum*	Vorderindien 1951

Gruppe D („Cruciferengruppe")

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze · Befallsbild	Herkunft
II 36	D 1	*Brassica oleracea* var. *gongylodes* (Kohlrabi), Sä. Stengelfäule	Berlin-Dahlem 1934
L 10	D 2	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl) Umfallkrankheit	Leichhardt/Brandenburg 1942
R 308	D 3	*Brassica oleracea* var. *sabauda* (Wirsing) Fußkrankheit	Berlin-Dahlem 1944
R 309	D 4	*Brassica oleracea* var. *capitata* (Rotkohl) Fußkrankheit	Berlin-Dahlem 1944
R 310	D 5	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl) Fußkrankheit	Berlin-Dahlem 1944
R 311	D 6	*Brassica oleracea* var. *capitata* (Weißkohl) Fußkrankheit	Berlin-Dahlem 1944
7290	D 7	desgl.	Babelsberg b. Berlin 1948
7248	D 8	*Brassica oleracea* var. Fußkrankheit	Stichelsdorf b. Halle 1947
D 8	D 9	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl)	Berlin-Dahlem 1942
R 332	D 10	*Brassica oleracea* var. *gongylodes* (Kohlrabi), Sä. Fußkrankheit	Pillnitz/Elbe 1944
S 23 b	D 11	*Cochlearia glastifolia*	Schwiebus 1943
7310	D 12	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	England 1948
7319	D 13	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	USA 1949
7335	D 14	*Brassica oleracea* var. *gongylodes* (Kohlrabi) Umfallkrankheit	Weißwasser/Ob.-Lausitz 1949
7336	D 15	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl) Umfallkrankheit	Mühlhausen/Thüringen 1949
7337	D 16	*Brassica oleracea* var. *capitata* (Rotkohl)	Borsdorf b. Leipzig 1949

Gruppe D (Fortsetzung)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
C 1	D 17	*Sagina*	Berlin-Charlottenburg 1943
7401	D 18	*Matthiola annuus*, Sä. Umfallkrankheit	Groß-Lüsewitz/Mecklenburg 1950
7435	D 19	*Brassica oleracea*	London 1951
7397	D 20	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl), WH.	Rehovot/Israel 1949
Ma 62	D 21	*Brassica oleracea* var. *botrytis* (Blumenkohl)	Marquardt/Brandenburg 1942
		Gruppe E	
D 27 b	E 1	*Lupinus angustifolius*	Berlin-Dahlem 1941
7423	E 2	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	New Delhi/Vorderindien 1950
La 101	E 3	*Trifolium pratense*	Landsberg/Warthe 1941
La 48	E 4	*Lupinus albus*	Landsberg/Warthe 1941
7425	E 5	*Soja hispida*, W.	New Delhi/Vorderindien 1950
		Gruppe F = „Kartoffelgruppe“	
R 302	K 1	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Marquardt/Brandenburg 1944
R 303	K 2	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
R 304	K 3	desgl.	Eichhof/Pommern 1944
R 305	K 4	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Berlin-Dahlem 1944
R 306	K 5	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
R 307	K 6	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
R 313	K 7	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Ostpreußen 1944

„Kartoffelgruppe" (Fortsetzung I)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
R 314	K 8	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Berlin-Dahlem 1944
R 315	K 9	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
R 317	K 10	desgl.	Neu-Buslar/Pommern 1944
R 322	K 11	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
R 323	K 12	desgl.	Berlin-Dahlem 1944
S 38	K 13	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Schwiebus 1943
S 39	K 14	desgl.	Schwiebus 1943
2279	K 15	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Malchow/Mecklenburg 1948
2280	K 16	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
6124	K 17	desgl.	Wittenmoor/Sachsen-Anhalt 1948
F 117	K 18	desgl.	Bürs-Arneburg/Sachsen-Anh. 1948
F 1552	K 19	desgl.	Vehlefanz/Brandenburg 1948
H 219	K 20	desgl.	Bürs-Arneburg/Sachsen-Anh. 1948
H 263	K 21	desgl.	Bürs-Arneburg/Sachsen-Anh. 1948
347	K 22	desgl.	Wittenmoor/Sachsen-Anhalt 1948
6633	K 23	desgl.	Bürs-Arneburg/Sachsen-Anh. 1948
7284	K 24	desgl.	Holland 1948
2293	K 25	*Solanum tuberosum*, Kn. Knollenfäule	Berlin-Dahlem 1926
2192	K 26	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Malchow/Mecklenburg 1948

„Kartoffelgruppe“ (Fortsetzung II)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
2208	K 27	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
2040	K 28	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
2051	K 29	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Malchow/Mecklenburg 1948
2237	K 30	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
2274	K 31	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
2276	K 32	desgl.	Malchow/Mecklenburg 1948
7289	K 33	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Berlin-Dahlem 1948
633	K 34	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Berlin-Dahlem 1948
7291	K 35	*Solanum tuberosum* Myzelumsponnene Triebe ohne Schäden	Berlin-Dahlem 1948
V 6	K 36	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Berlin-Dahlem 1948
D 44	K 37	*Vicia faba* Fußkrankheit	Berlin-Dahlem 1943
7296	K 39	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Belfast/England 1948
7297	K 40	desgl.	Edinburgh/Schottland 1948
7298	K 41	desgl.	Belfast/England 1948
7299	K 42	desgl.	Ballycastle/England 1948
7307	K 43	desgl.	Berlin-Dahlem 1948
7308	K 44	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Bielefeld/Westfalen 1948
7309	K 45	desgl.	Tostedt/Hannover 1948
R 342	K 46	desgl.	Leimnitz/Schwiebus 1944

„Kartoffelgruppe“ (Fortsetzung III)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
R 344	K 47	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Berlin-Dahlem 1945
R 345	K 48	desgl.	Berlin-Dahlem 1945
R 352	K 49	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Berlin-Dahlem 1945
R 353	K 50	*Solanum tuberosum* Myzelumsponnene Triebe ohne Schäden	Berlin-Dahlem 1945
7316	K 51	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Ankara/Türkei 1949
7317	K 52	desgl.	USA 1949
7318	K 53	desgl.	USA 1949
7322	K 54	desgl.	Belgien 1949
7323	K 55	desgl.	Belgien 1949
7324	K 56	desgl.	Belgien 1949
7325	K 57	desgl.	Belgien 1949
7326	K 58	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Belgien 1949
7338	K 59	desgl.	Knehden/Brandenburg 1949
7339	K 60	desgl.	Knehden/Brandenburg 1949
7340	K 61	desgl.	Knehden/Brandenburg 1949
7341	K 62	desgl.	Tasmanien/Australien 1949
7342	K 63	desgl.	Rendelsham/Australien 1949
7367	K 65	*Solanum tuberosum*	Victoria/Australien 1949
7369	K 66	desgl.	Victoria/Australien 1947

„Kartoffelgruppe“ (Fortsetzung IV)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
7370	K 67	desgl.	Victoria/Australien 1947
7371	K 68	desgl.	Victoria/Australien 1947
7373	K 70	desgl.	Canberra/Australien 1948
7374	K 71	desgl.	Canberra/Australien 1948
7390	K 72	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Lima/Peru 1949
7328	K 73	desgl.	Ankara/Türkei 1949
7445	K 74	*Avena sativa*	Süd-Dakota/USA 1951
7416	K 75	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Wunsiedel/Bayern 1950
7447	K 76	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Berlin-Spandau 1951
7430	K 77	desgl.	Ebstorf/Hannover 1951
7448	K 78	desgl.	Stade/Hannover 1951
R 357	K 79	*Daucus carota* Wurzelfäule infolge Möhrenfliegenbefall	Berlin-Müggelheim 1946
7434	K 80	*Solanum tuberosum* Myzelumsponnene Triebe ohne Schäden	Ebstorf/Hannover 1951

„Restgruppe“

7381	1	*Boehmeria nivea*	Buitenzorg/Java 1949
7288	2	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	USA 1948
V 39	3	*Begonia* Stengelfäule	Potsdam 1934
S 2	4	*Trifolium pratense* Wurzelfäule	Schwiebus 1943

„Restgruppe“ (Fortsetzung)

Kartei-Nr.	Gruppen-Nr.	Wirtspflanze Befallsbild	Herkunft
S 14	5	*Ornithopus sativus* Wurzel- und Wurzelhals-verbräunung	Schwiebus 1943
7173	6	*Callistephus chinensis* Umfallkrankheit	Berlin-Lichterfelde 1947
7306	7	*Ornithopus sativus* Fußkrankheit	Seggerde/Sachsen-Anhalt 1948
7320	8	*Pseudotsuga taxifolia* (keimende Samen)	USA 1949
7333	9	*Petroselinum sativum* Wurzelfäule	Berlin-Dahlem 1949
7382	10	*Nicotiana tabacum*	Buitenzorg/Java 1942
7396	11	*Apium graveolens*, WH.	Rehovot/Israel 1949
7439	12	*Avena sativa*	Süd-Ost-Dakota/USA 1951
F 15	14	*Silene*	Fährwinkel 1942
La 102	15	*Trifolium pratense*	Landsberg/Warthe 1941
7431	16	*Solanum tuberosum*	Bonn 1947
7395	18	*Solanum tuberosum*, Tr. Triebfäule	Rehovot/Israel 1949
7392	19	*Solanum tuberosum*, Kn. Sklerotien	Rehovot/Israel 1949
7372	20	*Solanum tuberosum*	Canberra/Australien 1947
D 86	21	*Lupinus luteus*	Berlin-Dahlem 1942
Ph 6	22	*Taraxacum koksaghys* Welke und Verfärbung des Zentralzylinders	Paulshuben 1942
NB 15	23	*Ornithopus sativus* Stengelfäule	Neu-Buslar/Pommern 1943
R 329		*Phaseolus vulgaris* Hülsenfäule	Berlin-Dahlem 1944
R 330		desgl.	Berlin-Dahlem 1944

Gruppe A enthält zehn Stämme, die von Wirtspflanzen der verschiedensten systematischen Stellung isoliert wurden. Darunter befinden sich als besonders bemerkenswert neben den deutschen Herkünften die aus Südostasien bezogenen Stämme 7384 (Buitenzorg), 7417 (Madras) und 7380 (Java). Die Stämme I 24 a, I 49, I 57 wurden seinerzeit auch von SCHULTZ (1936) geprüft und bei seiner Einteilung der Stämme entsprechend ihrer Fähigkeit, überindividuelle Anastomosen zu bilden, in die von dem Autor aufgestellte Anastomosengruppe I eingeordnet. Daraus ergibt sich, daß die hier als Fusionsgruppe A vorliegende Stammgruppe mit der Fusionsgruppe I der SCHULTZschen Einteilung als identisch angesehen werden kann.

Gruppe B: In dieser Anastomosengruppe sind zwölf Stämme zusammengefaßt, die mit Ausnahme von H 851, Ph 2 und 7442, die von Kartoffel bzw. Koksaghys bzw. Hafer stammen, von Leguminosen (*Lupinus*-Arten, Serradella) isoliert wurden. Mit Ausnahme des Stammes 7442, einer Herkunft aus Süd-Dakota (USA), stammen die übrigen Stämme dieser Gruppe von größtenteils weit auseinandergelegenen Fundorten Deutschlands.

Gruppe C umfaßt 28 Stämme, wovon acht von Leguminosen und sechs Stämme von *Gramineen* isoliert wurden. Die restlichen 14 Stämme sind wieder recht verschiedenen Ursprungs, und zwar sowohl in bezug auf die Wirtspflanze als auch auf die geographische Herkunft derselben. Einen besonderen Hinweis verdient die Tatsache, daß in diese Gruppe allein 16 Stämme außereuropäischer Herkunft (Nordamerika, Vorderasien, Südostasien und Australien) eingereiht werden konnten. In dieser Gruppe sind fernerhin verzeichnet die Stämme IV 10 und IV 47, die ebenfalls von SCHULTZ (1936) geprüft und von ihm in die Fusionsgruppe IV eingeordnet wurden. Die hier aufgestellte Gruppe C fällt also mit der Fusionsgruppe IV (nach SCHULTZ) zusammen.

Gruppe D = „*Cruciferen*-Gruppe": Diese Gruppe zeigt, ganz im Gegensatz zu den eben besprochenen (A bis C) hinsichtlich der Wirtspflanzenherkunft ihrer Stämme ein recht einheitliches Gepräge. Sie enthält 21 Stämme, die bis auf drei Ausnahmen — 7310, 7319 und C 1 — von *Cruciferen* stammen. Es erscheint bemerkenswert, daß auch die aus England und Israel bezogenen *Cruciferen*-Herkünfte 7435 und 7397 sich an dieser Stelle einordnen ließen.

Gruppe E: Diese Gruppe enthält nur fünf Stämme, und zwar mit Ausnahme des Stammes 7423, der von Kartoffel stammt, ebenfalls wieder Leguminosenherkünfte. Die Stämme 7423 und 7425 wurden aus New Delhi (Vorderindien) bezogen, während die anderen aus Deutschland stammen (Tabelle 1). Diese Anastomosengruppe scheint insofern eine Sonderstellung einzunehmen, als alle ihre Stämme, im Gegensatz zu den anderen Anastomosengruppen, eine auffallend schwächere Neigung zeigen, miteinander zu fusionieren. Die zygotropischen Reaktionen fehlten nicht, traten jedoch sehr viel seltener in Erscheinung als in den übrigen Gruppen. Anastomosen entstehen hier fast regelmäßig an zufälligen Berührungsstellen der Hyphen.

Gruppe F = „Kartoffelgruppe“: Diese Gruppe enthält bis auf einige Ausnahmen Kartoffelherkünfte[1]); und zwar konnten 74 von insgesamt 85 von der Kartoffel isolierte Stämme hier eingeordnet werden. Davon wurden 51 in Deutschland gesammelt, zehn Stämme wurden aus anderen europäischen Ländern (Belgien, Holland, England, Schottland) und 13 Stämme von anderen Erdteilen (Nord- und Südamerika, Vorder- und Ostasien, Australien) bezogen. Hierzu kommen noch drei von anderen Wirtspflanzen isolierte Stämme. Die seinerzeit von Schultz (1936), allerdings nur an wenigen Kartoffelherkünften, gemachte Feststellung, daß diese nur untereinander Anastomosen bilden, läßt sich durch die hier vorliegenden Ergebnisse voll bestätigen. Es fällt auf, daß alle Vertreter dieser Gruppe stärker als es in den anderen Stammgruppen der Fall ist, eine starke Fernwirkung aufeinander ausüben. Wie bei Köhler (1929, S. 149) und Schultz (1936, S. 24) dargestellt, krümmen sich die zygotropisch reagierenden Hyphenspitzen der beiden Partner fast regelmäßig hakenförmig gegeneinander, so daß dann die verschmolzenen Hyphen in einem S-förmigen Bogen verlaufen.

Anastomosenbildung konnte schließlich bei Kombination der beiden von Bohnenhülsenfäule isolierten Stämme R 329 und R 330 beobachtet werden, die aber möglicherweise identisch sind. Deshalb haben wir davon abgesehen, noch eine siebente Anastomosengruppe aufzustellen. Die beiden Vertreter sind daher in Tabelle 1 in der Restgruppe verzeichnet.

Die Ergebnisse der Anastomosenuntersuchungen lassen sich abschließend folgendermaßen zusammenfassen: Das vorliegende *Rhizoctonia*-Material aus 176 verschiedenen Herkünften läßt sich in sechs Stammgruppen einteilen, die dadurch charakterisiert sind, daß innerhalb jeder Gruppe alle Stämme miteinander Anastomosen bilden. Die Anastomosengruppen A und C sind mit Sicherheit mit den von Schultz aufgestellten Gruppen I bzw. IV identisch (s. o.). Es ist fernerhin anzunehmen, daß auch unsere Gruppen D und F, die „Cruciferengruppe“ und die „Kartoffelgruppe“ mit den bei Schultz unter den gleichen Bezeichnungen laufenden Anastomosengruppen II und III zusammenfallen. Die V. von Schultz aufgestellte Anastomosengruppe (Gruppe V) liegt hier sehr wahrscheinlich nicht vor, da der in diese Gruppe gehörige Stamm V 39 bei uns in keiner Kombination positive Resultate lieferte und infolgedessen nur in der „Restgruppe“ (Tabelle 1) untergebracht werden konnte. Daraus ergibt sich, daß unsere Gruppen B und E mit keiner der von Schultz aufgestellten fünf Anastomosengruppen gleichgesetzt werden können.

Die Tatsache, daß sich einmal bei der Prüfung unseres im Vergleich zu Schultz umfangreicheren Pilzmaterials zwei „neue“ Anastomosengruppen ergaben, und wir außerdem — wie Schultz übrigens auch — noch eine nicht eben kleine, uneinheitliche „Restgruppe“ übrigbehalten, für die sich bei Erhöhung des Vergleichsmaterials geeignete Partner wahrscheinlich noch auf-

[1]) Von den 74 Stämmen dieser Gruppe wurden 33 von Sklerotien auf der Knolle, ein Stamm von Knollenfäule, 31 von Triebfäule und drei von myzelumsponnenen, keine Beschädigung aufweisenden Trieben isoliert. Über sechs aus Australien bezogene „Kartoffelstämme“ können genauere Angaben nicht gemacht werden.

finden lassen, weist auf die Möglichkeit hin, bei Untersuchung einer noch größeren Anzahl verschiedener Herkünfte, als es hier geschehen konnte, weitere Verwandtschaftskreise („Stammgruppen") innerhalb der Art zu unterscheiden.

D. Morphologische Untersuchungen

1. Hyphenmessungen

Bei den Anastomosenuntersuchungen konnte immer wieder die auffällige Beobachtung gemacht werden, daß Stämme, die miteinander reagieren, auch in bezug auf ihre Hyphenbreite übereinstimmen. Es wurde nicht ein einziger Fall beobachtet, wo es zwischen Partnern, die sich schon bei oberflächlicher Betrachtung des Myzels in der Hyphendicke unterschieden, zur Anastomosenbildung gekommen wäre. Es lag daher nahe, anzunehmen, daß dieser Zusammenhang nicht zufallsbedingt ist, um so mehr, als zum Teil größere, visuell erfaßbare Unterschiede auch zwischen einzelnen Stammgruppen festgestellt werden konnten. Tatsächlich ließen sich diese Beobachtungen durch Hyphenmessungen bestätigen. Zu diesem Zweck wurde der Pilz auf Dünngußkulturen auf einem synthetischen Nährboden[1]) bei einer Temperatur von 26 ° C herangezogen. Aus jeweils 30 Einzelmessungen an den Haupthyphen wurden deren

Tabelle 2
Hyphendurchmesser
in Mikron

Gruppen	Mittelwert (Gruppendurchschnitt)	Schwankungsbreite
A	7,0 ± 0,4	5,2— 9,1
B	7,9 ± 0,5	7,1—10,6
C	7,5 ± 0,18	6,1— 8,7
D „Cruciferengruppe"	8,7 ± 0,19	7,4— 9,9
E	6,1 ± 0,4	5,3— 7,3
F „Kartoffelgruppe"	10,2 ± 0,15	7,2—14,2

[1]) 2 % Glukose, 0,5 % Kaliumnitrat, 0,1 % Magnesiumsulfat, 0,1 % Monokalziumphosphat, 2 % Agar.

durchschnittliche Durchmesser für jeden *Rhizoctonia*-Stamm ermittelt. In Tabelle 2 sind die für jede Gruppe errechneten Mittelwerte und die absolute Schwankung eingetragen. Aus dieser Aufstellung geht hervor, daß zwischen einzelnen Gruppen deutliche Unterschiede bestehen. So treten hauptsächlich zwischen der „Kartoffelgruppe" und allen übrigen Gruppen Unterschiede hervor, die in jedem Fall gesichert sind. Auch zwischen der Gruppe E und den übrigen Gruppen mit Ausnahme der Gruppe A bestehen Differenzen, die ebenfalls als gesichert gelten können. Die „Kartoffelstämme" zeichnen sich im Durchschnitt durch relativ breite Hyphen aus, während umgekehrt die Stämme der Gruppe E durch schmale Hyphen auffallen. Auch für die „Cruciferenstämme" wurden Werte gefunden, die nächst den „Kartoffelstämmen" im Mittel etwas höher liegen als die der übrigen Gruppen. Zwischen der „Cruciferengruppe" und der in der Rangordnung der Werte an der vorletzten Stelle stehenden Gruppe A besteht eine Differenz, die ebenfalls fehlerkritisch gesichert erscheint.

2. Morphologische Gruppen

Es ist eine bekannte und von zahlreichen Autoren[1]) immer wieder festgestellte Tatsache, daß sich die verschiedenen Herkünfte von *Rhizoctonia solani* in gewissen morphologischen Merkmalen (Myzelentwicklung, Zonenbildung, Ausbildung, Verteilung und Farbe der Sklerotien usw.), die dem Pilz in Reinkultur sein charakteristisches Aussehen verleihen, oft auffällig unterscheiden. K. O. Müller (1923), Exner und Chilton (1943) konnten selbst Unterschiede zwischen Einsporkulturen beobachten, die bei Exner und Chilton[2]) sogar aus dem gleichen Hymeniumlager stammten. Obwohl diese Unterschiede dem Außenstehenden schwer zu beschreiben sind, reichen sie in der Regel doch aus, um in der Routine des Laboratoriumsbetriebes gewisse Stämme jederzeit wiederzuerkennen. Es fragt sich jedoch, wieweit derartige morphologische Besonderheiten geeignet sind, die Art in kleinere systematisch-biologische Einheiten zu unterteilen. Man muß vor allem berücksichtigen, daß die der Art *Rhizoctonia solani* eigene starke Variabilität dabei erhebliche Schwierigkeiten bereitet und leicht zu Trugschlüssen führen kann, sofern ein zahlenmäßig zu geringes Material untersucht wird. Eine erfolgversprechende Bewertung kultureller Verschiedenheiten von *Rhizoctonia*-Stämmen ist deshalb nur möglich, wenn die Vergleiche auf breitester Basis unter einwandfrei einheitlichen Bedingungen durchgeführt werden. Bei derartigen Versuchen kam Schultz (1936) auf Grund von Unterschieden in der Myzelentwicklung und Sklerotienausbildung zur Aufstellung von vier morphologischen Gruppen, denen er allerdings nur einen bedingten systematischen Wert zugestehen

[1]) Peltier (1916), Rosenbaum und Shapovalov (1917), Hartley (1921), Matsumoto (1921), Müller (1923), Briton-Jones (1924), Gratz (1925), Thomas (1925), Lauritzen (1929), Elmer (1932), Exner und Chilton (1943), Person (1944), Houston (1945), Kotila (1947), Boosalis (1950) u. a.

[2]) Exner und Chilton nehmen an, daß bei der Basidiosporenbildung eine Aufspaltung erfolgt. „These results suggest that some type of segregation occurs in the formation of basidiospores."

möchte, weil es sich um Merkmale handelt, die der Modifikation durch die Außenbedingungen in starkem Maße unterliegen. Darüber hinaus konnte SCHULTZ noch darauf hinweisen, daß zwischen den von ihm nach morphologischen Gesichtspunkten aufgestellten Stammgruppen und den Anastomosengruppen eine weitgehende Beziehung zu bestehen scheint. Auch HOUSTON (1945) benutzt die in der Reinkultur zutage tretenden Unterschiede, um die zahlreichen von ihm für Infektionsversuche benutzten Herkünfte von *Rhizoctonia solani* zu gruppieren. Er stellt drei „culture types" auf, in die sich die meisten der von ihm isolierten Stämme einwandfrei einordnen ließen.

Bei dem eigenen umfangreichen Untersuchungsmaterial war es vor allem von Interesse, festzustellen, wieweit sich derartige, nach morphologisch-kulturellen Merkmalen abgegrenzte Gruppen der Pilzstämme mit den „Fusionsgruppen" koordinieren lassen, da SCHULTZ eine solche Koordinierung nur sehr bedingt gelungen war, andererseits aber der Nachweis derartiger Beziehungen für die Differenzierung der Art bedeutungsvoll sein dürfte.

Bei diesen Untersuchungen wurde auf die Anzucht des Vergleichsmaterials unter absolut einheitlichen, konstanten Bedingungen das allergrößte Gewicht gelegt. Die Stämme wurden in Petrischalen auf Bierwürzeagar bei einer Temperatur von 23 ° C zehn Tage lang herangezogen und dann miteinander verglichen. Die für die Beimpfung benutzten, unter den gleichen Bedingungen gehaltenen Vorkulturen, aus denen die Impfstückchen von 0,5 cm Durchmesser nur am Rande der Kulturen entnommen wurden, waren vier Tage alt. Von jedem Stamm wurden zwei Parallelkulturen angelegt.

Unter diesen Bedingungen ließen sich schließlich bei einer Klassifizierung der Stämme auf Grund der oben erwähnten morphologischen Merkmale ebenfalls sechs Gruppen unterscheiden, die in bezug auf die Verteilung der Stämme mit den aufgestellten Anastomosengruppen im großen und ganzen übereinstimmen.

1. Gruppe: Umfaßt alle Stämme der Fusionsgruppe A:

Substratmyzel: Meist hell, niemals Zonenbildung.

Luftmyzel: Weiß bis gelblich, locker, meist spärlich.

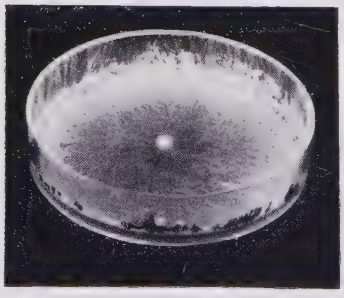


Abb. 1. Typ der morphologischen Gruppe 1 = Fusionsgruppe A

Pseudosklerotien: Haselnußbraun bis schokoladenbraun, einzeln und in Tuffs am Substratmyzel und am Luftmyzel; hauptsächlich am Glasrand der Petrischale, seltener in der Nähe des Impfstückes. Die Anlage erfolgt nach vier bis sechs Tagen. Recht charakteristisch ist der braune Ring von kompakten Sklerotienmassen an dem 2 cm hohen Rand der Glasschale (Abb. 1). Daran sind die Mehrzahl der zu dieser Gruppe gehörigen Stämme auf den ersten Blick zu erkennen und von anderen Gruppen zu unterscheiden.

2. Gruppe: Enthält die überwiegende Mehrzahl der Stämme der Fusionsgruppe B:

Substratmyzel: Gelblich, leicht strahlig, immer mit wenigstens schwach sichtbaren Zonen (Abb. 2).

Luftmyzel: Gelblich, locker. Tendenz zu üppiger Luftmyzelbildung für die Gruppe charakteristisch.

Pseudosklerotien: Hell, später etwas dunkler, einzeln und in Tuffs am Substratmyzel, locker bis flockig, klein, meistens sehr viel; in der Nähe des Impfstückes und fast immer am Glasdeckel der Petrischale. (Bei sehr üppiger Luftmyzelentwicklung werden weniger Sklerotien angelegt.)

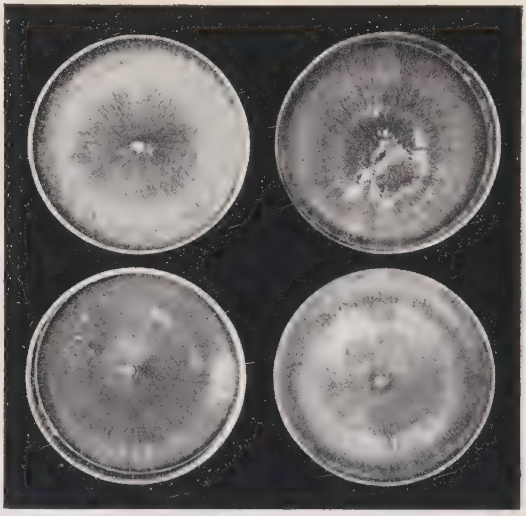


Abb. 2. Typen der morphologischen Gruppe 2 = Fusionsgruppe B

3. Gruppe: Enthält die Stämme der Fusionsgruppe C:

Substratmyzel: Meist hell, fast regelmäßig mit kreidigem Anflug; ausgeprägt strahlig und glatt, fast strangförmig; bei den meisten Stämmen deutliche Zonenbildung.

Luftmyzel: Spärlich, kurz und anliegend.

Pseudosklerotien: Fast ganz fehlend (Abb. 3); nur in Ausnahmefällen vorhanden, dann einzeln, sehr klein, in der Nähe des Impfstückes oder am Deckel.

4. Gruppe: Enthält alle Stämme der Fusionsgruppe D = „Cruciferengruppe“:

Substratmyzel: Gelblich, strahlig, leichte Zonenbildung.

Luftmyzel: Gelblich, locker, kurz, mäßig entwickelt.

Pseudosklerotien: Gelblich bis cremefarben, auf älteren Kulturen hellbraun bis braun; meist in Tuffs am Substratmyzel und am Luftmyzel; sehr klein und von körniger Struktur, immer sehr zahlreich, entweder einen kompakten, halboffenen bis geschlossenen, mehrere Zentimeter breiten Ring in etwa

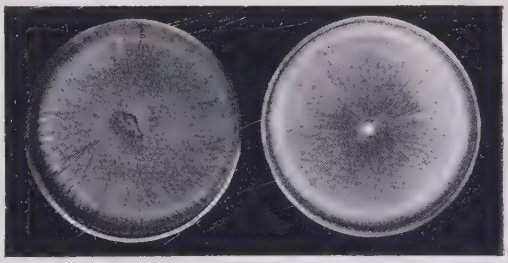


Abb. 3. Typen der morphologischen Gruppe 3 = Fusionsgruppe C

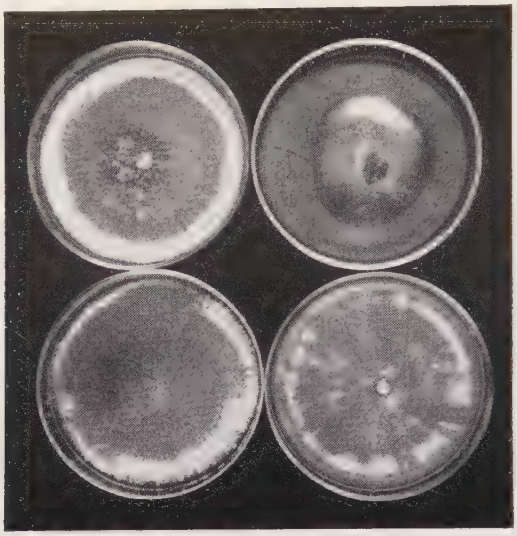


Abb. 4. Typen der morphologischen Gruppe 4 = Fusionsgruppe D

1 cm Abstand von dem Schalenrand bildend oder zu einzelnen ±-großen, meist scharf begrenzten Tuffs in der Nähe des Impfstückes zusammentretend. Auf älteren Kulturen Sklerotien am Luftmyzel und außerdem ±-regellos auf der ganzen Kultur verteilt. Anlage nach vier bis fünf Tagen. Diese Gruppe ist absolut typisch und verhältnismäßig leicht von den anderen Gruppen an dem ±-breiten, zuweilen wulstigen, halboffenen oder geschlossenen Ring von cremefarbenen Sklerotien zu unterscheiden (Abb. 4).

5. Gruppe: Enthält alle Stämme der Fusionsgruppe E:

Substratmyzel: Weiß, gelblich bis hellbraun, strahlig, bei einigen Stämmen Zonenbildung.

Luftmyzel: Weiß, immer üppig entwickelt, locker, watteartig.

Pseudosklerotien: Am Substratmyzel und am Luftmyzel, von kleinkörniger griesiger Struktur, Anzahl und Verteilung sehr unterschiedlich. Diese Gruppe ist verhältnismäßig leicht an der ganz außerordentlich starken Entwicklung des Luftmyzels zu erkennen, das, wie Abb. 5 zum Ausdruck bringt, den ganzen Schalenraum einnimmt.

6. Gruppe: Enthält die Stämme der Gruppe F = „Kartoffelstämme“:

Substratmyzel: Zimtbraun, strahlig, bei einigen Stämmen sehr ausgeprägte Zonenbildung.

Luftmyzel: Meist wenig, häufig etwas mehr in unmittelbarer Randnähe. (Bei einigen Stämmen allerdings auch üppige Luftmyzelentwicklung.)

Pseudosklerotien: Bei der Mehrzahl der Stämme vorhanden. Sattbraun bis schwarzbraun (nur bei einigen Stämmen etwas heller), einzeln und in Tuffs am Substrat- und Luftmyzel, sonst in bezug auf Größe, Anzahl und Verteilung starke Unterschiede (Abb. 6). Sklerotien fehlen häufig bei Stämmen mit besonders charakteristischer Zonenbildung.

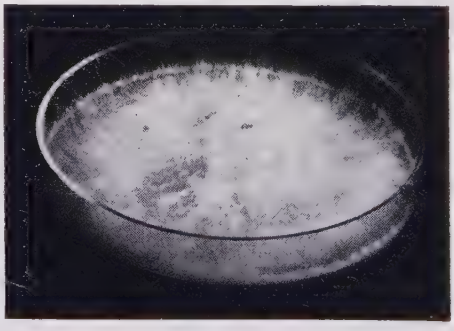


Abb. 5. Typ der morphologischen Gruppe 5 = Fusionsgruppe E

Die zimtbraune Färbung des

Myzels und der dunkelbraune Farbton der Sklerotien, die mit zunehmendem Alter der Kulturen noch an Farbintensität gewinnen, sind ebenso wie die durch die Mehrzahl der Stämme hervorgerufene Bräunung des Substrates recht charakteristisch und können als einigermaßen sichere Unterscheidungsmerkmale der „Kartoffelstämme" von anderen *Rhizoctonia*-Herkünften und -Gruppen gelten.

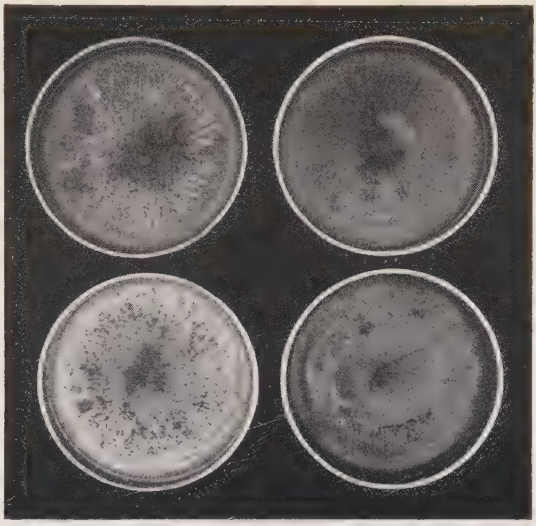


Abb. 6. Typen der morphologischen Gruppe 6 = Fusionsgruppe F („Kartoffelstämme")

Im Gegensatz zu SCHULTZ besteht bei unseren Untersuchungen in allen Fällen eine Beziehung zwischen den auf Grund besonderer kultureller Merkmale aufgestellten morphologischen Gruppen und den Fusionsgruppen. Soweit sich die von SCHULTZ gemachten Angaben vergleichen lassen, erkennt man, daß diese nur in einem, jedoch wesentlichen Punkt von den eigenen Feststellungen abweichen. Bei ihm fehlt eine unserer morphologischen Gruppe 6 entsprechende klare Abgrenzung der „Kartoffelstämme". Seine „Kartoffelstämme" sind in der morphologischen Gruppeneinteilung mit den Cruciferenherkünften vereinigt, also mit einer Auswahl von Stämmen, die etwa unserer vierten Gruppe entsprechen würde. Diese unterschiedliche Beurteilung der „Kartoffelstämme" in der morphologischen Gruppeneinteilung ist dadurch zu erklären, daß SCHULTZ ein zu kleines Vergleichsmaterial an „Kartoffelstämmen" (sieben Stämme) besaß, an dem nach unserer Ansicht die für die „Kartoffelgruppe" charakteristischen Merkmale nicht eindrucksvoll genug zu erkennen waren. Dieses Beispiel zeigt, wie schwierig es ist, die zweifellos mögliche Einteilung der *Rhizoctonia*-Stämme nach verhältnismäßig geringfügigen morphologischen Unterschieden praktisch durchzuführen.

Zusammenfassend ist festzustellen: Innerhalb der Art *Rhizoctonia solani* können mit Hilfe der Anastomosenbildung eine Reihe von Stammgruppen gekennzeichnet werden, die sich unter bestimmten Voraussetzungen auch durch morphologische Merkmale (Hyphenbreite, besondere Wuchsmerkmale in der Reinkultur) unterscheiden.

E. Physiologische Untersuchungen

Es ist hinreichend bekannt, daß zwischen einzelnen *Rhizoctonia*-Stämmen in bezug auf Wachstumsgeschwindigkeit und Temperaturansprüche unter Umständen ganz erhebliche Unterschiede vorhanden sein können. Eine Zusam-

menstellung der hauptsächlichsten älteren Literaturstellen findet sich bei BRAUN (1930, S. 72 ff.). In Untersuchungen jüngeren Datums wird von LE CLERG (1934, 1939, 1941), SCHULTZ (1936), ULLSTRUPP (1936), PERSON (1944), HOUSTON (1945), BOSCH (1948) u. a. darauf hingewiesen. Nachdem sich bei unseren Untersuchungen gezeigt hatte, daß die aufgestellten Anastomosengruppen auch durch morphologische Merkmale voneinander unterscheidbar sind, erhebt sich die Frage, wie weit auch physiologische Kriterien zur Differenzierung der Stämme und Kennzeichnung der Stammgruppen mit herangezogen werden können. Deshalb wurden alle Stammgruppen auf Wachstumsgeschwindigkeit und Temperaturansprüche untersucht und außerdem der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum geprüft.

1. Wachstumsgeschwindigkeit

Zur Bestimmung der linearen Ausbreitungsgeschwindigkeit des Myzels wurden von jedem Stamm vier Parallelkulturen auf synthetischem Nährboden (siehe S. 182) in Petrischalen angelegt und bei 20° C bebrütet. Der Zuwachs wurde durch tägliche Messungen festgestellt. Die für die Beimpfung unter einheitlichen Bedingungen auf Bierwürzeagar in Petrischalen herangezogenen Vorkulturen waren sechs bis sieben Tage alt, als am Rande der Kolonie die Impfstückchen von 5 mm Durchmesser ausgestochen wurden. In Tabelle 3 sind, als Ergebnis dieser Versuchsreihen, die für die sechs Stammgruppen errechneten Mittelwerte (durchschnittlicher Zuwachs des Myzelradius in 24 Stunden) verzeichnet. Diese Zahlen lassen gesicherte Unterschiede zwischen einzelnen Stammgruppen (A und B, A und D, A und F, B und C, C und D, C und F, D und F) erkennen. Die stärksten Differenzen ergeben sich zwischen den Gruppen A und C einerseits und den Gruppen B und F andererseits. Die Stammgruppen A und C zeichnen sich durch verhältnismäßig schnelles Wachstum aus, während umgekehrt die beiden anderen Gruppen Stämme enthalten, die relativ langsam wachsen. Am stärksten ausgeprägt ist dieser Gegensatz allerdings zwischen den Stämmen der Gruppe A und den „Kartoffelstämmen" (Gruppe F). Bei einer Gegenüberstellung der Einzelstammwerte zeigt sich nämlich, daß die Mindestwerte in der Stammgruppe A (23) ebenso groß sind wie die Maximalwerte in der Kartoffelgruppe (22). Gegen diese Ausführungen könnten insofern Bedenken geäußert werden, als wir bei unserer Versuchsanstellung aus technischen Gründen darauf verzichten mußten, den unterschiedlichen Temperaturansprüchen der Stämme Rechnung zu tragen und die einzelnen Stammgruppen in ihrem jeweiligen Temperaturoptimum zu messen. Daß die erhaltenen Werte aber trotzdem zu der oben gegebenen Deutung berechtigen, ergibt sich aus einem Vergleich mit den in Tabelle 4 (Temperaturansprüche der Stammgruppen) eingetragenen Befunden. Danach dürfen wir sogar annehmen, daß die Differenzen in der Wachstumsgeschwindigkeit zwischen einzelnen Gruppen — hauptsächlich zwischen den relativ schnell wachsenden Gruppen A und C — auf der einen und der relativ langsam wachsenden „Kartoffelstammgruppe" auf der anderen Seite eher noch größer sind, als es nach unseren Versuchsergebnissen den Anschein hat. Die beiden zuerst erwähnten Gruppen besitzen ein Temperatur-

optimum, das oberhalb 25 ° C liegt, während die Kartoffelstämme zwischen 21 ° und 25 ° ihre maximale Wachstumsgeschwindigkeit erreichen.

Tabelle 3

Durchschnittlicher Zuwachs des Myzelradius in 24 Stunden in mm

Gruppe	Anzahl der Stämme	Mittelwert	Absolute Schwankung der Einzelstamm-durchschnittswerte
A	8	30 ± 1,2	23—34
B	9	15 ± 3,1	2—26
C	26	28 ± 1,26	9—33
D „Cruciferengr."	19	22 ± 1,58	9—28
E	5	22 ± 3,1	11—31
F „Kartoffelgr."	38	14 ± 1,22	3—22

2. Temperaturansprüche

Bei den Temperaturversuchen legten wir das größte Gewicht auf die Feststellung der Temperaturgrenzen (Maximal- und Minimaltemperaturen). Das Verhalten der Stämme im Bereich von niedrigen Temperaturen wurde in Kühlkammern und einem Kühlschrank bei 0 °, 1,4 °, 5,2 °, 7,2 °, 10 ° C untersucht. Zur Feststellung des Temperaturmaximums dienten Thermostaten bei 21 °, 23 °, 25 °, 29 °, 31 °, 33 °, 35 °, 37 °, 38 °, 39 ° C. Von jedem Stamm wurden zwei Parallelkulturen auf Bierwürzeagar in der üblichen Weise angelegt und bis zu drei Wochen den angegebenen Temperaturen ausgesetzt. Als Ergebnis dieser Untersuchungen sind in Tabelle 4 die Temperaturansprüche der einzelnen Stammgruppen verzeichnet. Wir verzichten an dieser Stelle auf die Darstellung der Einzelstammwerte, möchten aber doch erwähnen, was in Tabelle 4 nicht zum Ausdruck gebracht werden konnte, daß der „Cruciferenstamm" D 20 aus Israel und der „Kartoffelstamm" K 63 aus Südaustralien aus den entsprechenden Gruppen herausfallen, da ihre Temperaturansprüche höher liegen. Aus der Tabelle geht hervor, daß sich ausgeprägte Unterschiede in bezug auf die Temperaturansprüche der Stämme ergeben zwischen den Gruppen A, B, C, E auf der einen Seite und D, F auf der anderen Seite. Bei den zuerst genannten Gruppen finden wir in der Tabelle Maximalwerte zwischen 33 ° und 38 ° C und Minimalwerte zwischen 5,2 ° und 10 ° C und darüber verzeichnet. In der Gruppe D liegen die Maxi-

malwerte zwischen 31 ° und 33 ° C und die Minimalwerte zwischen 1,4 ° und 5,2 ° C. Eine im Vergleich dazu noch stärkere Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen und umgekehrt geringere Empfindlichkeit gegen niedrige Temperaturen ist in der „Kartoffelgruppe" vorhanden. Hier wurden bei 16 „Kartoffelstämmen" Maximalwerte von 29 ° C und Minimalwerte von 0 ° C gefunden (Tabelle 5). Durch diese Befunde wird eindeutig bewiesen, was sich auch schon bei Untersuchungen anderer Autoren ergeben hat (z. B. LE CLERG und PERSON und MEADOW [1942], HOUSTON [1945]), daß in bezug auf die Temperaturansprüche ein wesentlicher Unterschied besteht zwischen „Kartoffelherkünften" einerseits und den meisten „Nichtkartoffelherkünften" andererseits. Diese Tatsache veranlaßte seinerzeit K. O. MÜLLER (1923) bei seiner Untersuchung über die Beziehungen von *Moniliopsis Aderholdi* zu *Rhizoctonia solani*, sich zugunsten der von RUHLAND (1908) durchgeführten Trennung zwischen *Rhizoctonia* und *Moniliopsis* auszusprechen. Eine Ausnahme unter den „Nichtkartoffelherkünften" bilden die „Cruciferenherkünfte", die nahezu die gleichen Temperaturansprüche stellen wie die „Kartoffelstämme" (siehe Tabelle 4). Dieses Ergebnis steht mit den Befunden von GRATZ (1925) im Einklang, der die Temperaturansprüche von „Kohlstämmen" ermittelte und ähnliche Werte fand.

Tabelle 4

Temperaturansprüche der Gruppen

Gruppe	Maximum	Minimum	Optimum
A	35 °—38 ° C	üb. 5,2 °—10 ° C und darüber	etwa zwischen 25 ° und 29 ° C
B	35 ° C	üb. 5,2 °—10 ° C	
C	33 °—38 ° C	5,2 °—10 ° C und darüber	
D „Cruciferengr."	31 °—33 ° C	1,4 °—5,2 ° C	21 °—25 ° C
E	33 °—38 ° C	5,2 °—10 ° C und darüber	25 °—29 ° C
F „Kartoffelgr."	29 °—33 ° C	0 ° und 1,4 ° C	21 °—25 ° C

Im Hinblick auf die von THOMAS (1925) und SCHULTZ (1936) gemachte Feststellung, daß *Rhizoctonia*-Herkünfte aus wärmeren Klimaten höhere Temperaturansprüche stellen als Herkünfte aus gemäßigten Breiten und auch Stämme aus Warmhäusern, warmen Mistbeetkästen, Vermehrungsbeeten gegen niedrige Temperaturen[1]) empfindlicher sind als Herkünfte aus dem Freiland, Kalthäusern usw., erschien es von besonderem Interesse, ob sich bei

[1]) Temperaturminimum zwischen 5 ° C und 9 ° C (SCHULTZ, 1936, S. 22).

Tabelle 5
Temperaturansprüche der Stämme

Maximum	Minimum	Stämme
37 °—38 ° C	10 ° C und darüber	A2, A3, A7—A10 C5, C7—C9, C12—C18, C20—C22 D20 E2, E5
35 ° C	über 5,2 °—10 ° C	A1, A5, A6 B1—B9, B11 C1—C4, C11, C19, C23—C27 E4 K37, K63
33 ° C	5,2 ° C	C6, C10 E1, E3 D4, D5, D12, D15, D16, D19
	1,4 ° C	K11, K13, K16, K25—K29, K31—K34, K36, K39, K40—K44, K46, K48, K52—K62, K65—K68, K70—K72
31 ° C	1,4 ° C und unter 1 ° C	D7, D11, D14 K20, K21, K24, K47, K50, K51
29 ° C	0 ° C	K1, K3, K5—K9, K12, K18, K19, K23, K30, K48, K49, K51, K68

unseren Untersuchungen die gleichen Verhältnisse ergeben würden. Tabelle 5 bringt, nach Maximalwerten geordnet, eine Einteilung in fünf Gruppen. In der ersten Gruppe sind alle Stämme zusammengefaßt, deren Maximum bei 37 ° C und 38 ° C und deren Minimum nicht unterhalb 10 ° C liegt. Es zeigt sich (vgl. Tabelle 1), daß es sich hier ausschließlich um Stämme handelt, die entweder aus warmen Zonen (Java, Indien, Israel u. a.) stammen oder von Wirtspflanzen isoliert wurden, die ihren Standort im Gewächshaus haben. Darunter befindet sich auch der oben erwähnte Stamm D 20, der einzige aus der warmen Zone stammende „Cruciferenstamm", während alle anderen „Cruciferenstämme" entsprechend ihrer tiefer liegenden Maximalwerte erst in der dritten und vierten Gruppe dieser Klassifikation erscheinen. In der zweiten Gruppe dieser Einteilung (Maximum 35 ° C, Minimum über 5,2 ° bis 10 ° C) sind überwiegend Leguminosenherkünfte, fernerhin Herkünfte aus kontinental-ariden Gebieten — Haferstämme aus Süd-Dakota und der Kartoffelstamm K 63 aus Südaustralien — vertreten. In den nun folgenden Gruppen finden wir fast ausschließlich „Cruciferen-" und „Kartoffel-Herkünfte" verzeichnet. Aus dieser Aufstellung geht hervor, daß Beziehungen zwischen den Temperaturansprüchen der Stämme und den klimatischen Verhältnissen der geographischen Herkunft und wahrscheinlich innerhalb be-

stimmter Grenzen auch zu den Temperaturansprüchen der Wirtspflanze bestehen. Beispielhaft tritt uns eine Beziehung zu der geographischen Herkunft entgegen bei allen Stämmen, die aus warmen Klimagebieten, subtropischen und tropischen Klimaprovinzen stammen. Das gleiche gilt auch für alle Warmhausherkünfte. Aber auch die Tatsache, daß sich im Vergleich zu den „Kartoffel-" und „Cruciferenherkünften" für die „Leguminosenherkünfte" höhere Temperaturwerte ergeben, dürfte dafür sprechen, daß im Sinne der obigen Feststellung eine Beziehung zu den Temperaturansprüchen der Wirtspflanze vorhanden ist; die bekanntlich bei den Leguminosen etwas größer sind als bei den Kohlgewächsen und bei der Kartoffel.

3. Reaktion des Nährsubstrates

Über das Verhalten verschiedener *Rhizoctonia*-Herkünfte gegenüber der chemischen Reaktion des Nährbodens liegen nur vereinzelte Literaturangaben vor. Soweit diese zu den hier gemachten Untersuchungen in Beziehung stehen, seien sie angeführt: MATSUMOTO (1921) untersuchte an einzelnen *Rhizoctonia*-Stämmen den Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Entwicklung des Pilzes und konnte bedeutsame Unterschiede nicht beobachten. GRATZ (1925), der in Versuchen mit der gleichen Fragestellung zehn Stämme von Kohl, Kartoffel, Bambus und Aster einbezog, kommt im großen und ganzen zu dem gleichen Ergebnis, stellte allerdings fest, daß die „Kartoffelstämme" etwas empfindlicher im stark sauren Bereich reagieren. SAMUEL und GARRET (1932), die die Entwicklung von drei Weizenherkünften und zwei Kartoffelherkünften bei verschiedenen Reaktionsgraden einer vergleichenden Betrachtung unterzogen, konnten aufzeigen, daß bei den Kartoffelstämmen lediglich das Optimum der Entwicklung gegenüber den Weizenherkünften etwas weiter in den alkalischen Bereich verschoben ist (Kartoffelstämme pH 6,5 bis 7,0; Weizenherkünfte pH 6,0 und 6,5). Weitere Unterschiede traten bei ihren Versuchen nicht auf. Von besonderem Interesse sind die Ausführungen von SCHAFFNIT und MEYER-HERMANN (1930), denen zufolge *Moniliopsis Aderholdi* im Unterschied zu *Rhizoctonia solani* eine große Vorliebe für hohe Alkalität des Bodens besitzt (*Moniliops. Aderh.* = litrophile Gruppe; *Rhizoct. sol.* = astatische Gruppe). Da nach diesen Mitteilungen zumindest irgendein Unterschied zwischen der „Kartoffelstammgruppe" und den übrigen Stammgruppen zu erwarten war, wurden die nachstehenden Untersuchungen über den Einfluß der Substratreaktion innerhalb des Bereiches pH 2,0 bis 11,6 auf das Wachstum von 105 *Rhizoctonia*-Stämmen in Angriff genommen. Dabei erfolgte die Herstellung von elf verschiedenen Reaktionsgraden durch Zugabe von 1 ccm HCl oder NaOH verschiedener Konzentration zu 10 ccm Bierwürzeagar (Tabelle 6). Um Säurehydrolyse der stark sauren Nährböden zu verhindern, wurden in jedem Fall die angegebenen Mengen Säure bzw. Lauge und der Nährboden getrennt sterilisiert, nach der Sterilisation miteinander vereinigt und sofort in Petrischalen ausgegossen. Die Bestimmung der pH-Werte erfolgte mit dem Lautenschläger-Folienkolorimeter. Der Versuch wurde mit zwei Parallelen angesetzt.

Tabelle 6
Wasserstoffionenkonzentration der Bierwürzenährböden

10 ccm	Würzeagar	1 ccm	1/4 n HCl	pH 2,0
10 „	„	1 „	1/8 n HCl	pH 2,4
10 „	„	1 „	1/16 n HCl	pH 3,4
10 „	„	1 „	1/32 n HCl	pH 4,3
10 „	„	1 „	1/64 n HCl	pH 5,8
10 „	„	1 „	1/64 n NaOH	pH 6,6
10 „	„	1 „	1/32 n NaOH	pH 7,4
10 „	„	1 „	1/16 n NaOH	pH 8,7
10 „	„	1 „	1/4 n NaOH	pH 10,5
10 „	„	1 „	1/2 n NaOH	pH 11,1
10 „	„	1 „	1 n NaOH	pH 11,6

Da es uns in diesem Zusammenhang in erster Linie wieder darauf ankommt, festzustellen, ob bei den untersuchten *Rhizoctonia*-Stämmen hinsichtlich der Abhängigkeit von der Substratreaktion Unterschiede bestehen, die zur Charakterisierung der Stammgruppen mit herangezogen werden könnten, verzichten wir im folgenden auf die Mitteilung der mit den 105 verschiedenen Stämmen erhaltenen Einzelergebnisse und geben für jeden Reaktionsgrad nur die absolute Schwankung der Einzelstammwerte innerhalb einer Stammgruppe und den errechneten Gruppendurchschnitt in relativen Zahlen an (Abb. 7). In Anbetracht der Tatsache, daß innerhalb der Stammgruppen größere Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit zwischen einzelnen Stämmen bestehen und sich die einzelnen Stammgruppen in dieser Beziehung auch noch etwas unterscheiden, haben wir die Versuchsergebnisse der besseren Vergleichsmöglichkeit wegen als Relativwerte umgerechnet. Dabei wurden innerhalb jeder Versuchsreihe der Maximalwert des Wachstums eines Stammes (pH-Optimum), und zwar der nach n-Tagen auf der Plattenkultur erreichte größte Koloniedurchmesser als einheitliche Bezugsgröße (größter Koloniedurchmesser nach n-Tagen = 100 %) gewählt. Diese Untersuchungen zeigten, daß zwischen einzelnen Stammgruppen keine oder nur minimale Unterschiede in Erscheinung treten, sich wohl aber innerhalb der Gruppen einzelne Stämme in ihrem Verhalten gegenüber der Reaktion des Nährbodens stärker voneinander unterscheiden. Die von Gratz gemachte Beobachtung, daß „Kartoffelstämme" im allgemeinen etwas empfindlicher gegen stark saure Reaktion sind, können wir nur insofern bestätigen, als sich bei unseren Untersuchungen ergab, daß bei einer Reihe von „Kartoffelstämmen" (19 von 34) das Maximum der Säureverträglichkeit von pH 3,4 etwas höher liegt als bei allen übrigen *Rhizoctonia*-Stämmen. Eine besondere Vorliebe für hohe Alkalität, wie sie entsprechend der Mitteilung von Schaffnit und Meyer-Hermann innerhalb der Stammgruppen A bis E („Nichtkartoffelstämme") hätte zum Ausdruck kommen müssen, konnte nicht festgestellt werden. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß in der Gruppe E ein im Vergleich zu den übrigen Stammgruppen etwas höherer Grad von Säure- und Alkaliverträglichkeit vorhanden zu sein scheint. So zeigte sich, daß alle fünf Stämme dieser Gruppe bei

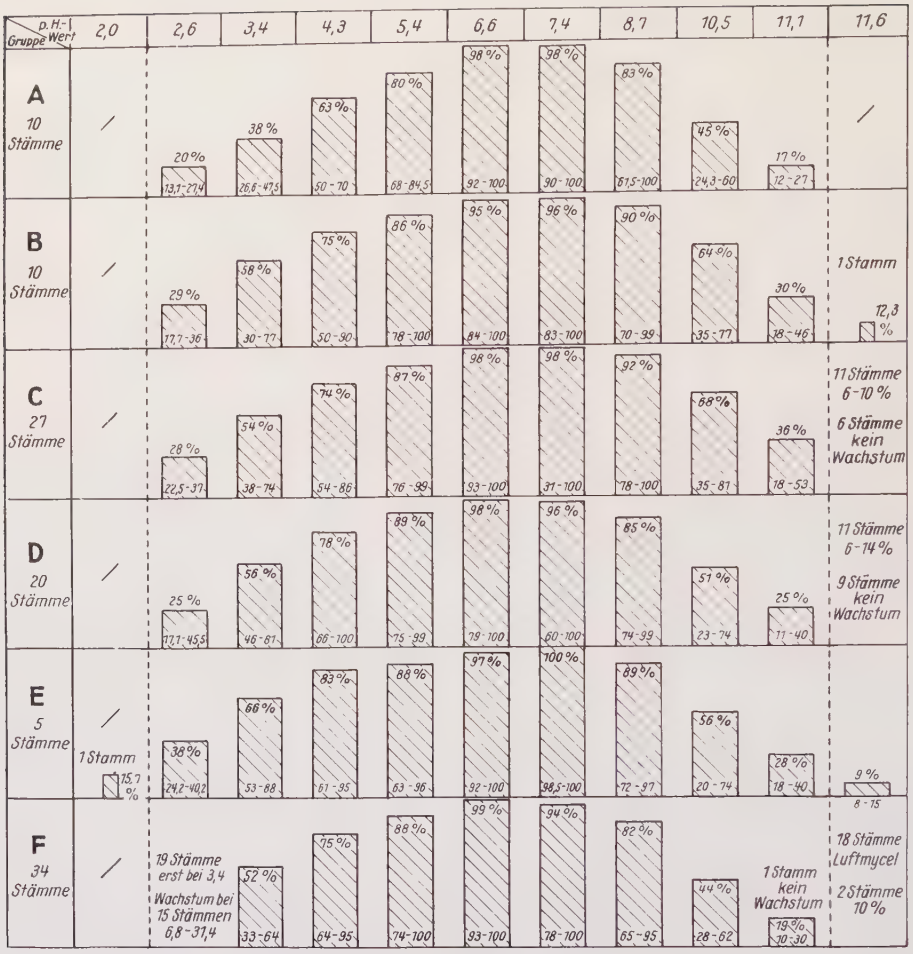


Abb. 7. Einfluß der H-Ionenkonzentration des Nährbodens auf das Wachstum. Wachstum der Stammgruppen bei verschiedenen pH-Werten. Gruppendurchschnitt und Schwankungsbreite in relativen Zahlen. (Größter Koloniedurchmesser nach n-Tagen = 100 %.)

pH 2,6 bereits etwas kräftiger wuchsen als die anderen Stammgruppen. Bei einem Stamm dieser Gruppe lag außerdem das Maximum der Säureverträglichkeit bei pH 2,0, einem Wert, der von keinem der übrigen 104 untersuchten *Rhizoctonia*-Stämme erreicht wurde! Auf der anderen Seite ist das Maximum der Alkaliverträglichkeit von pH 11,6 in dieser Gruppe etwas stärker ausgeprägt als in den übrigen. Da es sich hier aber nur um die Ergebnisse von fünf Stämmen handelt, wird auf weitergehende Schlußfolgerungen verzichtet.

4. Rückblick auf die Ergebnisse

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, daß die physiologischen Verschiedenheiten zwischen den Stammgruppen, soweit solche überhaupt nachgewiesen werden konnten, nicht ausgeprägt genug sind, um sie allgemeingültig zur

Charakterisierung der Gruppen heranzuziehen. Zweifellos am deutlichsten zeichnen sich Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit zwischen einzelnen Gruppen ab. Da aber die Schwankung innerhalb der Gruppe relativ groß ist, erscheint es nicht möglich, die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Myzels als Kriterium der Gruppenzugehörigkeit eines Stammes zu werten. Houston (1945, p. 177) kommt allerdings zur gegenteiligen Ansicht, nachdem er weitgehende Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit zwischen den von ihm nach morphologischen Gesichtspunkten aufgestellten Gruppen A, B, C feststellte: „Rarely did an isolate from one group fall within the growth limit of another, so that growth rate character could be used in conjunction with other growth characters in classifying an isolate."

Auch hinsichtlich der Temperaturansprüche bestehen charakteristische Unterschiede ebenfalls nur zwischen einzelnen Gruppen. Es konnte außerdem festgestellt werden, daß eine Beziehung zu den Temperaturverhältnissen der geographischen Herkunft und möglicherweise auch — innerhalb gewisser Grenzen — zu den Temperaturansprüchen der Wirtspflanze besteht. Es scheint also, daß sich innerhalb der Art und innerhalb der Stammgruppen „Temperaturrassen" differenziert haben, die in besonderer Weise an die Temperaturverhältnisse (extreme Temperaturwerte) der Standorte angepaßt sind. Die Versuche über den Einfluß der H-Ionenkonzentration auf das Wachstum führte zu absolut negativen Befunden, da hierbei gruppenspezifische Unterschiede nicht oder höchstens andeutungsweise — bei der „Kartoffelgruppe" — festgestellt werden konnten.

F. Pathogenität der Pilzstämme

Im folgenden werden zunächst die Ergebnisse von Versuchen, die nach zwei verschiedenen Infektionsmethoden mit allen Stammgruppen an auflaufenden Sämlingen durchgeführt wurden, mitgeteilt. Als Versuchspflanzen dienten Vertreter aus einigen Pflanzenfamilien, von denen bekannt ist, daß sie von *Rhizoctonia solani* zum Teil mit Vorliebe, zum Teil aber nur verhältnismäßig selten befallen werden. Diese Untersuchungen sollen, ebenso wie die in den darauffolgenden Kapiteln dargestellten Infektionsversuche an Kartoffeltrieben und Gewebestücken der Kartoffelknolle, zur Klärung der viel umstrittenen Frage nach der biologischen Differenzierung und Spezialisierung der Art beitragen.

I. Infektionsversuche an Keimpflänzchen

1. Infektionsversuche I

Diese Untersuchungen wurden in den Jahren 1949 bis 1951 in den Monaten April bis September in einem Gewächshaus durchgeführt, in dem die Temperaturschwankungen zwischen 15 ° und 30 ° C durch Berieselungs- und Schattierungsanlagen wesentlich herabgesetzt werden konnten. Die Durchschnittstemperatur lag im Frühjahr (Monate April und Mai) bei etwa 20 ° C und in den Sommermonaten bei etwa 25 ° C. Die relative Luftfeuchtigkeit

war Schwankungen zwischen 50 und 70 % unterworfen. Bei den Infektionsversuchen I erfolgte eine gleichmäßige Durchmischung der Anzuchterde mit dem Infektionsmaterial. Die Einsaat wurde in Pikierkästen von 30 × 52 cm vorgenommen, und zwar so, daß die 16 verschiedenen Versuchspflanzen in einem Kasten mit einem *Rhizoctonia*-Stamm infiziert werden konnten. Das Infektionsmaterial wurde auf einem Gemisch aus Torfmull, Strohhäcksel und Sand mit Malzextraktzusatz in 500 ccm Weithalskolben herangezogen. Die beimpften Kolben standen bei einer Temperatur von 20° bis 25° C, bis das Substrat nach etwa drei Wochen gleichmäßig vom Pilzmyzel durchwachsen

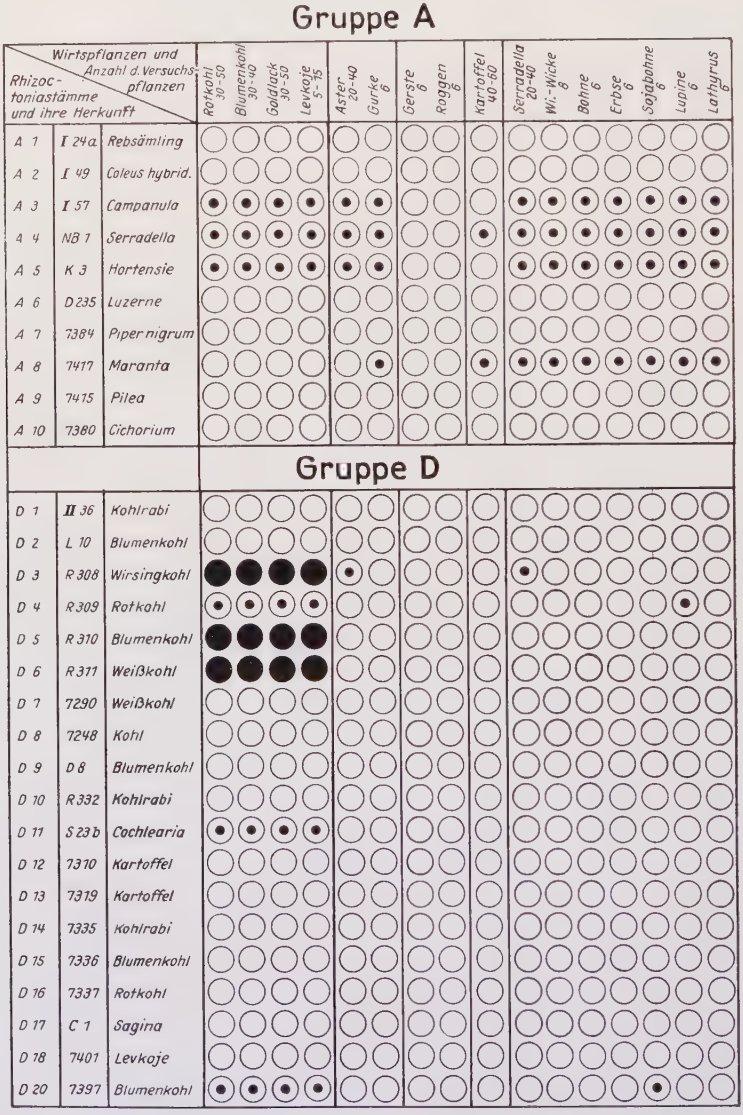
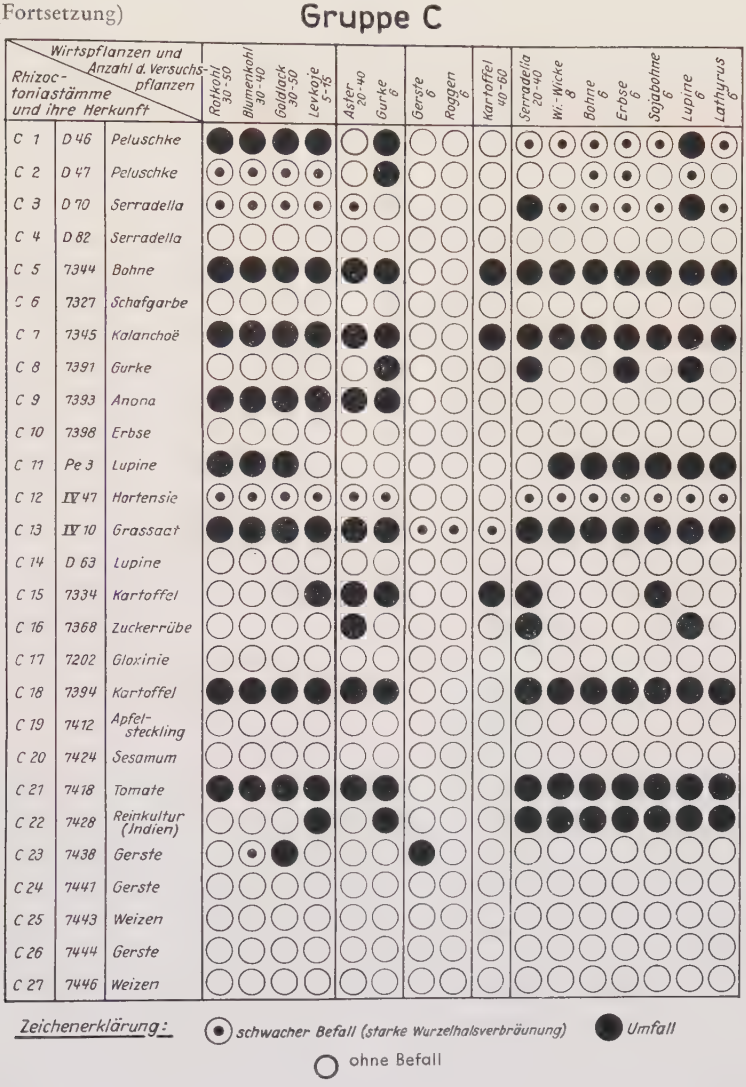


Abb. 8. Ergebnisse des Infektionsversuches I an auflaufenden Sämlingen

Abb. 8. (Fortsetzung)



war. Dann wurde der Inhalt von zwei Kolben mit der Erde (2 Teile sterile Komposterde, 1 Teil steriler Sand) eines Pikierkastens gleichmäßig durchmischt. Jeder Ansatz hatte eine genügende Anzahl von Kontrollkästen und wurde nur ausgewertet, wenn alle Kontrollpflanzen gesund geblieben waren. Bei der Auswertung der Versuche wurden Auflauf und Umfall der Sämlinge bonitiert. Nicht aufgelaufene Pflanzen wurden als stark befallen gewertet. Nach drei Wochen wurden alle überlebenden Pflanzen aus dem Boden entnommen, gründlich im Wasser abgespült und auf schwächere Beschädigungen an Wurzel und Wurzelhals untersucht.

Positive Ergebnisse lieferten unter diesen Bedingungen nur 25 Stämme, die sich auf die Stammgruppen A, C und D (siehe Abb. 8) verteilen und

unabhängig von ihrer Herkunft meist an verschiedenen Wirtspflanzen pathogen waren. Die Tatsache, daß unter den geschilderten Versuchsbedingungen ein relativ hoher Prozentsatz der Stämme nicht in der Lage war, von schwachen Wurzelhalsverbräunungen abgesehen, typische Krankheitssymptome hervorzurufen, und zwar in einigen Fällen auch dann nicht, wenn es sich um die Wirtspflanze handelte, von der der betreffende Stamm isoliert worden war, gab natürlich zu denken und ließ auf ungünstige Infektionsbedingungen schließen. Es wurden daher Versuche zur Erhöhung des Infektionserfolges eingeleitet, die schließlich zu dem auf Seite 199 ff. mitgeteilten Verfahren führten. Obwohl die in Abb. 8 verzeichneten Ergebnisse zweifellos nicht den vollen Umfang des Angriffsvermögens der geprüften Pilzstämme widerspiegeln, sind sie insofern aufschlußreich, als sie die bei den Versuchen immer wieder beobachtete Sonderstellung der Gruppe C besonders anschaulich machen. Während in den übrigen Anastomosengruppen die Stämme entweder gar nicht oder überwiegend nur schwach pathogen waren, zeigen in der Gruppe C zwar nicht alle, aber doch die Mehrzahl der Vertreter eine ganz ausgeprägte Pathogenität. Diese Erscheinung ist so auffällig, daß sie keinesfalls auf Zufälligkeit beruhen kann. Offenbar ist bei den Vertretern dieser Gruppe die Aggressivität mit einer besonders starken Vitalität gepaart, was unter Umständen erst dann richtig zum Ausdruck kommt, wenn die allgemeinen Bedingungen und Voraussetzungen für die Entfaltung der optimalen parasitischen Leistungsfähigkeit des Pilzes ungünstig sind.

2. Infektionsversuche II

Diese Untersuchungen wurden in den Monaten September bis Dezember 1951 wieder mit allen *Rhizoctonia*-Stämmen und unter Verwendung der aus Abb. 13 ersichtlichen Versuchspflanzen durchgeführt. Bei sämtlichen Versuchsserien wurden Samen der gleichen Sorten und Herkünfte benutzt.

Diesmal wurden durch Erhöhung der Luftfeuchtigkeit und durch Konstanthaltung der Temperatur von 24 ° C sowie durch schwache Etiolierung der Keimpflänzchen während 48 Stunden nach Aufbringen des Infektionsmaterials optimale Verhältnisse für das Zustandekommen der Infektion geschaffen. Dadurch wurde erreicht, daß der Krankheitsbefall gegenüber dem Infektionsversuch I eine wesentliche Steigerung erfuhr. Die Versuchspflanzen wurden mit Ausnahme der immer etwas ungleichmäßig auflaufenden großsamigen Leguminosen wieder in Pikierkästen in einem Gemisch von 2 Teilen steriler Komposterde und 1 Teil sterilem Sand herangezogen, wobei alle Pflanzen, die zur gleichen Zeit auflaufen, in demselben Kasten gleichzeitig und ungebeizt zur Aussaat gelangten. Die großsamigen Leguminosen (Soja, Bohne, Erbse, Lupine) wurden zunächst, nachdem das Saatgut vor Verwendung mehrmals handverlesen und in 0,5 % Sublimat fünf Minuten oberflächlich sterilisiert worden war, bis zum Spitzen der Würzelchen vorgekeimt und danach ebenfalls in sterilem Komposterde-Sand-Gemisch in Blumentöpfen von 15 cm Durchmesser ausgepflanzt. Dabei konnten von vornherein alle schlecht keimenden Samen ausgeschaltet werden, so daß es auf diese Weise gelang,

ein recht gleichmäßiges Versuchsmaterial heranzuziehen. Die jungen Pflänzchen wurden unmittelbar nach dem Auflaufen mit 0,5 cm breiten und bis zu mehreren Zentimeter langen, vom Pilz durchwachsenen Agarstreifen (Myzelstücken) infiziert, die seitlich neben der Pflanzreihe flach in den Boden

Durch *Rhizoctonia solani* geschädigte Sämlinge

Abb. 9. Verschiedene Befallsgrade (3 → 1) bei Soja. Rechts Kontrollpflanze

Abb. 10. Verschiedene Befallsgrade (1→3) bei gelber Lupine („Weiko"), links Kontrollpflanze

Abb. 11. Verschiedene Befallsgrade (1 → 3) bei Erbse, Links Kontrollpflanze

Abb. 12. Verschiedene Befallsgrade (3 ← 1) bei Buschbohne
Rechts Kontrollpflanzen

eingesteckt wurden. Die Anzahl der von jeder Versuchspflanze infizierten Individuen ist aus Abb. 13 zu ersehen. Das Infektionsmaterial wurde in Petrischalen auf Bierwürzeagar sechs Tage lang bei 26 ° C herangezogen. Alle Versuchspflanzen wurden unmittelbar nach der Infektion für 48 Stunden in der Feuchtkammer in einem temperaturkonstanten Raum bei 24 ° C und künstlicher Beleuchtung (40 bis 100 Lux) gehalten. Anschließend erfolgte Wiederaufstellung im Gewächshaus. Bereits 18 bis 24 Stunden nach der Infektion konnte Umfall namentlich bei besonders anfälligen Versuchspflanzenarten beobachtet werden. Als in den Pikierkästen (Cruciferen, Aster, Gurke, Mohn, Gramineen, Serradella, Kartoffel) nach vier Tagen und in den Töpfen (großsamige Leguminosen) nach sechs Tagen eine Zunahme und Verstärkung des Krankheitsgrades nicht mehr erfolgte, wurden alle überlebenden Sämlinge und die Kontrolle zur Untersuchung entnommen.

Es zeigten sich an den infizierten Keimpflänzchen die bekannten, in der einschlägigen Literatur beschriebenen Krankheitssymptome, in Hauptsache Wurzelhals- und Stengelbefall, wobei bei Cruciferen, Mohn, Gurke, Aster, Kartoffel, Serradella der Verfall sehr rasch vor sich ging und die befallenen Pflanzen nach kurzer Zeit immer abstarben. Im Gegensatz dazu erlitten Bohne, Erbse, Soja, Lupine, Roggen und Gerste, deren Keimpflänzchen sehr viel robuster sind, in der Hauptsache nur starken Erosionsbefall oder zeigten stärkere Verbräunungen am Wurzelhals (Roggen, Gerste). An den Leguminosen (Abb. 9—12) wurden durch einige Stämme stärkere Schäden an den Kotyledonen und am Vegetationspunkt hervorgerufen. Um das Ergebnis der Versuche zahlenmäßig zu erfassen, wurde der Befallsgrad jeder einzelnen Keimpflanze nach einem Bewertungsschema mit drei Intensitätsgraden bonitiert (Tab. 7) und der Krankheitsgrad nach der Formel

$$\frac{\text{Summe (Anzahl der Pflanzen je Befallsgrad} \times \text{Befallsgrad)}}{\text{Gesamtzahl der Pflanzen}}$$

errechnet.

Tabelle 7
Beurteilung der durch *Rhizoctonia solani* geschädigten Sämlinge

Befallsgrad	Krankheitsbild
0	Pflanzen gesund, ohne irgendwelche Flecke
1	leichter Stengelbefall oder starke Wurzelhalsverbräunung
2	starker Stengelbefall (Erosionsfäule)
3	Umfall

Die Ergebnisse sind in Abb. 13 und 14 wiedergegeben; und zwar wurden die Stämme wieder nach Stammgruppen zusammengestellt und angeordnet. Einmal geschah dieses aus Gründen der Übersichtlichkeit, vor allem aber, um

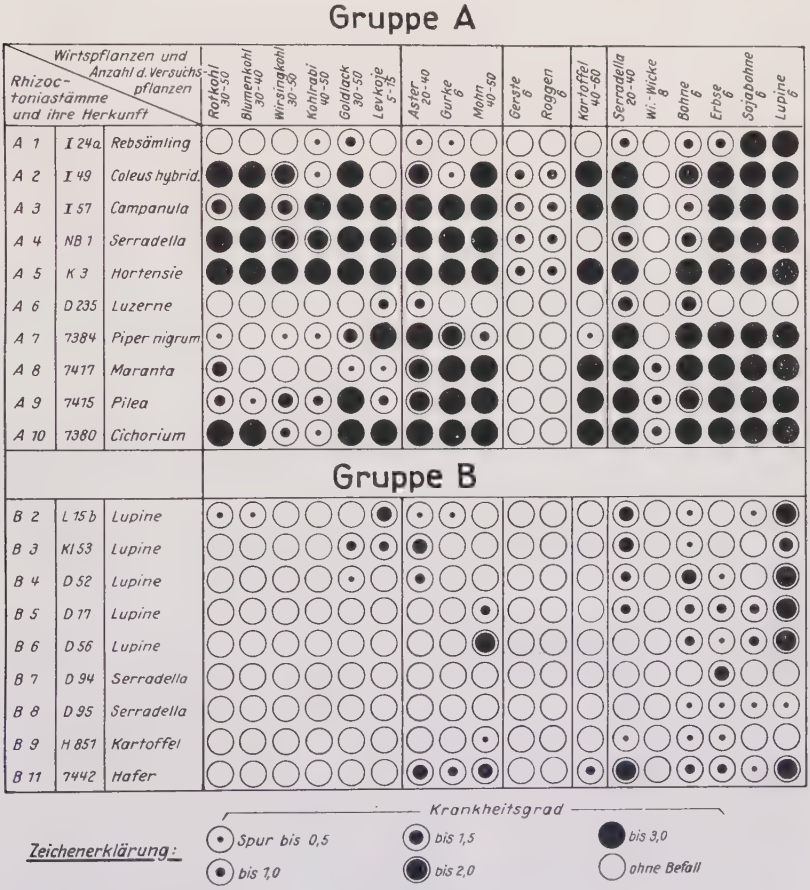
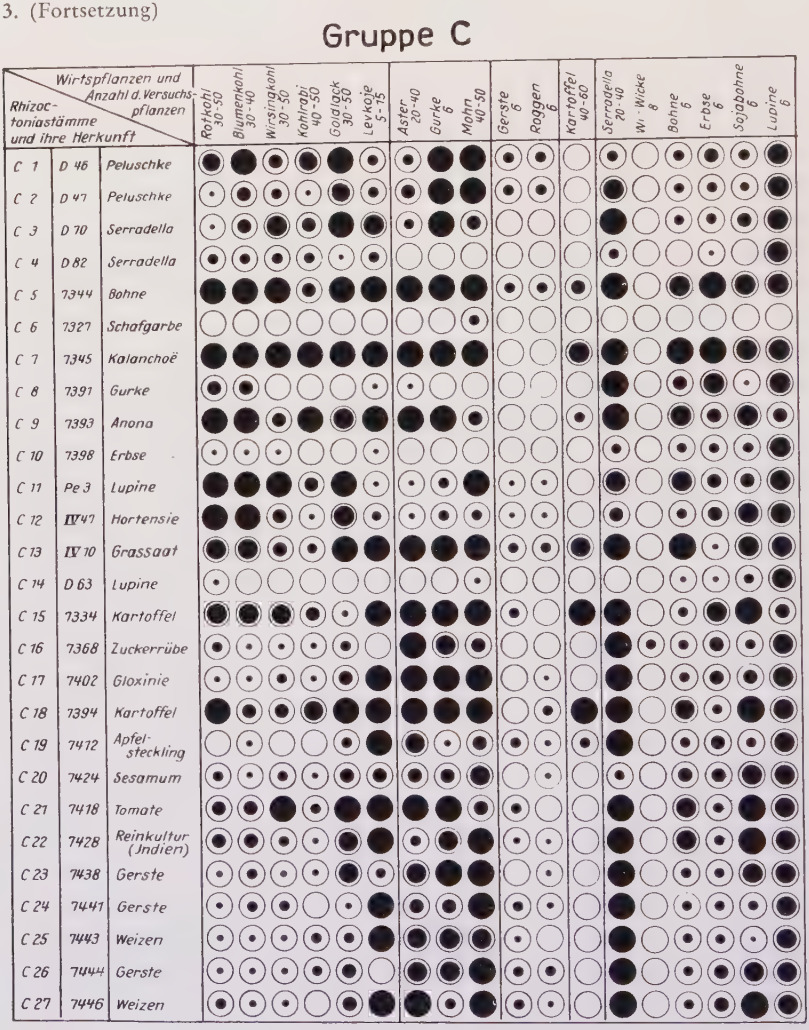


Abb. 13. Ergebnisse des Infektionsversuches II an auflaufenden Sämlingen (Stammgruppen A—E = „Nichtkartoffelstämme“)

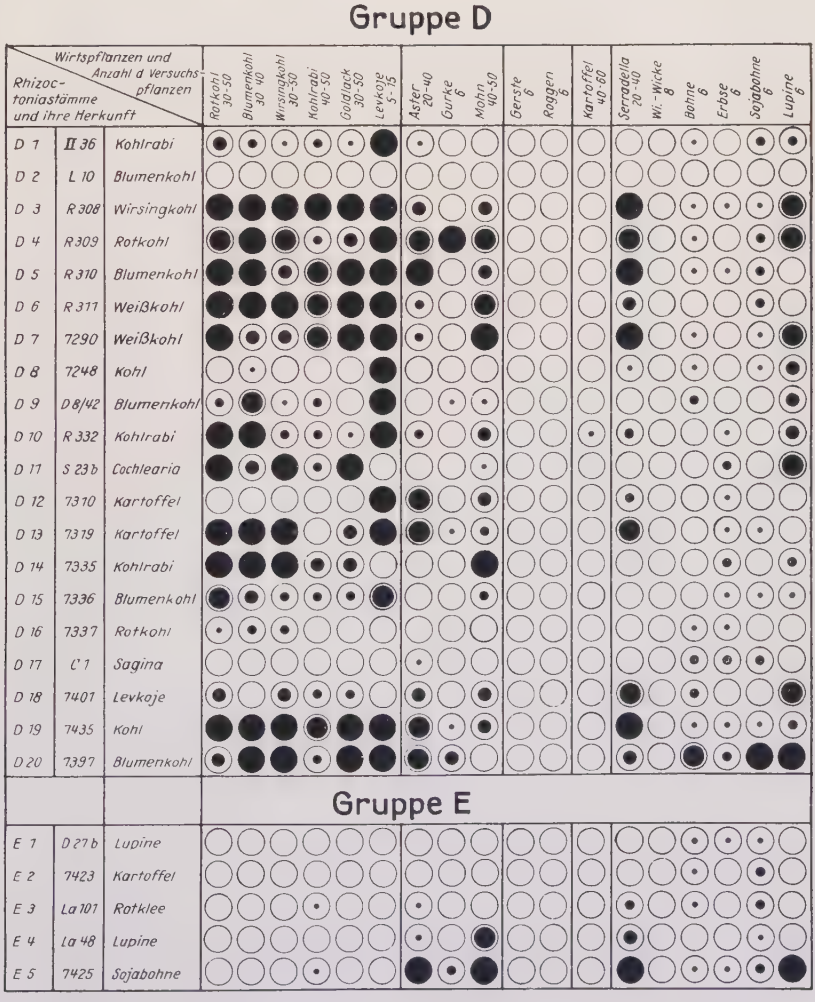
festzustellen, ob und wieweit die einzelnen Anastomosengruppen auch in biologischer Hinsicht eine Einheit bilden. Wenn tatsächlich innerhalb der Art „biologische Rassen" existieren — wofür die Befunde mancher Autoren sprechen — so war am ehesten mit der Möglichkeit zu rechnen, daß diese in irgendeiner Beziehung zu den Stammgruppen stehen und unter Umständen sich auch mit diesen decken. Diese Vermutung lag besonders nahe bei der „Cruciferengruppe" (Stammgruppe D) und der „Kartoffelgruppe" (Stammgruppe F), wo allein durch die Tatsache, daß alle Stämme dieser beiden Gruppen fast ausschließlich von Cruciferen bzw. von Kartoffel isoliert worden waren, wahrscheinlich gemacht wird, daß diese Stammgruppen hinsichtlich ihrer Wirtswahl feiner differenziert sind. Ganz allgemein ist aus der Darstellung der Ergebnisse in Abb. 13 und 14 ersichtlich, daß in den Stammgruppen A

Abb. 13. (Fortsetzung)



bis E („Nichtkartoffelherkünfte") die Stämme, soweit sie an Keimpflänzchen infektiös sind, durchaus in der Lage sind, unabhängig von ihren Herkunftswirtspflanzen auch an anderen Wirtsarten pathogen aufzutreten. Ganz anders die „Kartoffelstämme": diese sind praktisch nur an der eigenen Wirtspflanze stärker pathogen! Wir können daraus folgern, daß in dieser Gruppe ein spezifisches Infektionsvermögen für die Kartoffel vorhanden ist. Für alle übrigen Stammgruppen läßt sich eine ähnliche Spezialisierung und Bindung an bestimmte Wirtspflanzen nach den vorliegenden Ergebnissen nicht nachweisen; wohl aber für einige Gruppen eine Vorliebe für bestimmte Wirtspflanzen wahrscheinlich machen. Das ist zunächst der Fall bei der „Cruciferengruppe" und kommt in der Darstellung insofern zum Ausdruck, als durch die Mehrzahl der Cruciferenstämme meist mehrere, in einigen Fällen sogar alle

Abb. 13. (Fortsetzung)



Gruppe F (Kartoffelstämme)

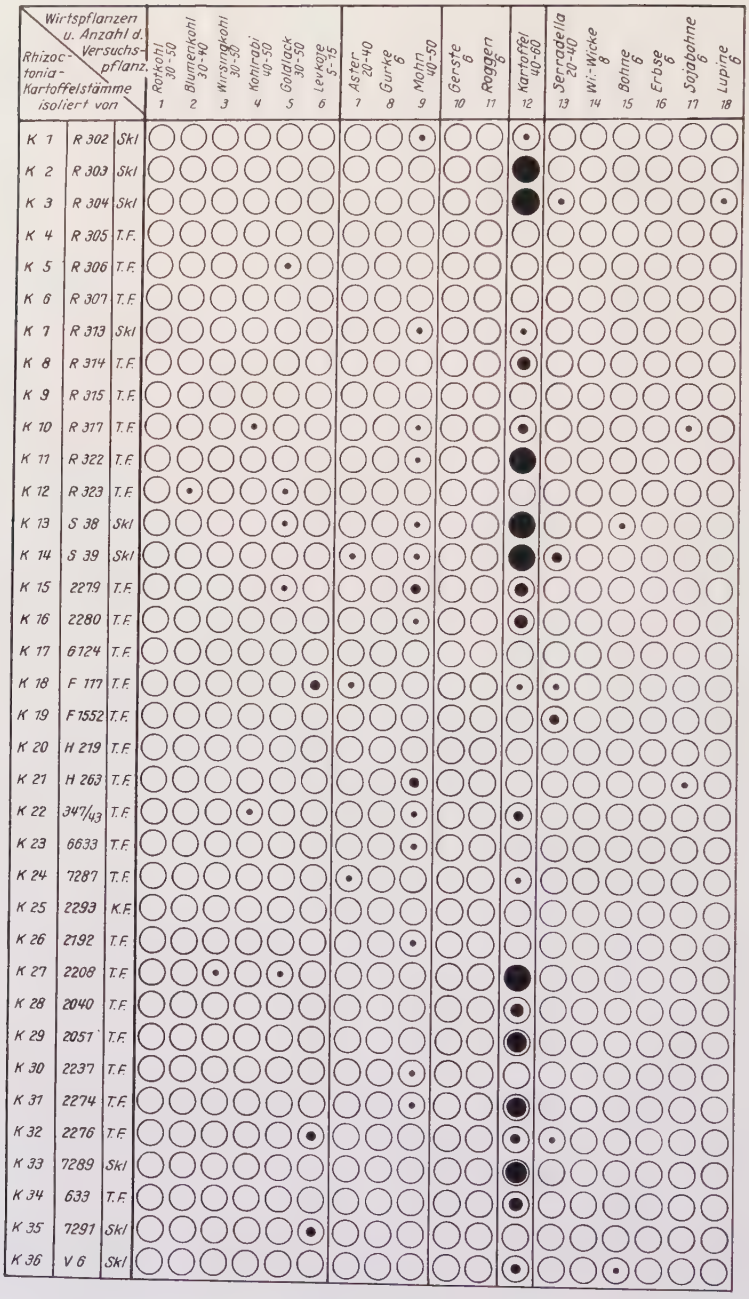
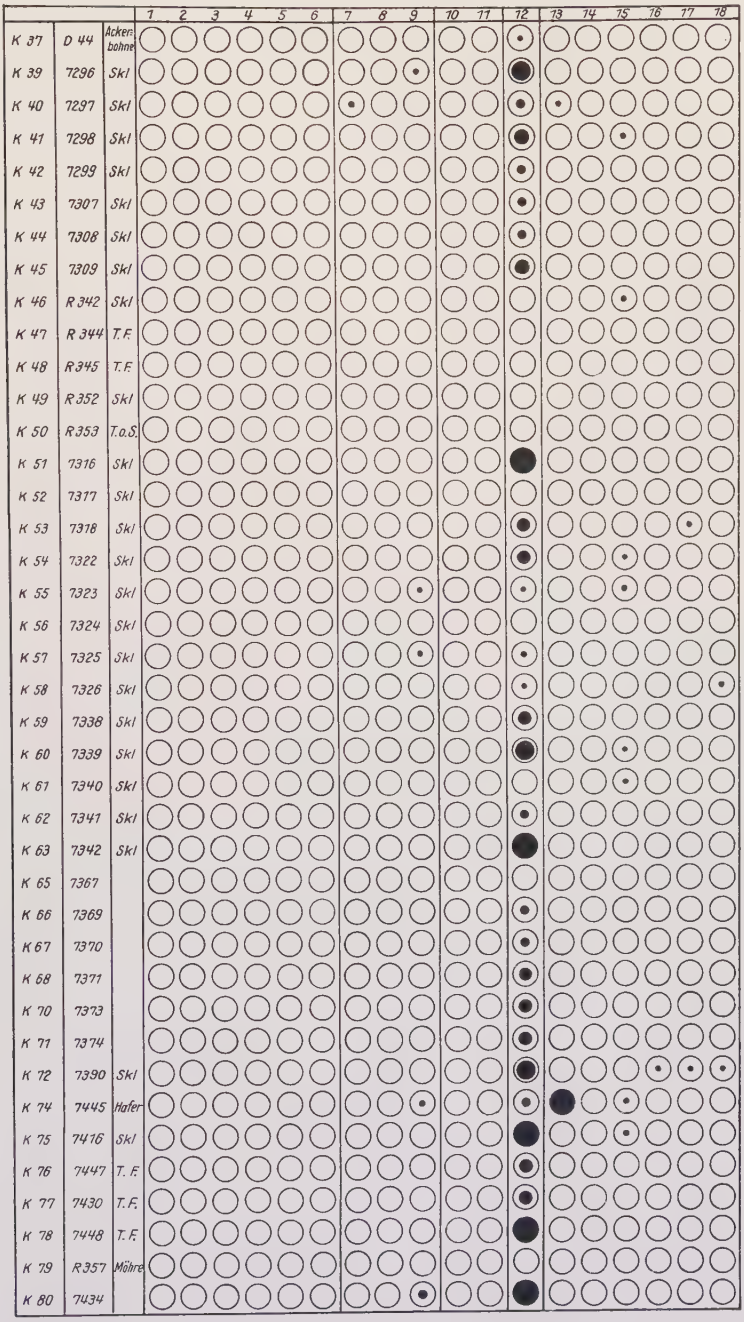


Abb. 14. Infektionsversuch II an auflaufenden Sämlingen

Zeichenerklärung: TF = Triebfäule
KF = Knollenfäule
Skl = Sklerotien

Weitere Erklärungen siehe Abb. 13

Abb. 14. (Fortsetzung)



aus dieser Pflanzenfamilie ausgewählten Vertreter bei unseren Untersuchungen stärker, vielfach sogar sehr stark befallen wurden. Jedoch läßt sich eine Spezialisierung ausschließlich auf die *Cruciferen* für keinen einzigen Stamm nachweisen. Alle Stämme sind außer an *Cruciferen* zumindest an einer, manchmal auch an mehreren Wirtspflanzen anderer systematischer Stellung, stark virulent. Auch für die Stammgruppen B und E kann eine schwache, in der gleichen Richtung zum Ausdruck kommende Tendenz festgestellt werden. Diese Gruppen enthalten in der Hauptsache Stämme, die von *Leguminosen* isoliert wurden. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann man den Eindruck haben, daß in beiden Stammgruppen ebenfalls eine gewisse, allerdings noch schwächer als bei der „Cruciferengruppe" zutage tretende Vorliebe für bestimmte Wirtspflanzen besteht. Auffällig ist jedenfalls, daß von den Stämmen dieser beiden Gruppen die *Cruciferen* fast ganz gemieden werden, während die *Papilionaceen* den Vorzug erhalten; allerdings auch wieder nicht uneingeschränkt. Einige Stämme dieser Gruppe sind auch noch an anderen Wirtspflanzen — Mohn, Aster, Gurke —, die nach unseren Erfahrungen als ausgesprochen „*rhizoctonia*-anfällig" zu gelten haben, stärker pathogen. Schließlich treten auch die Stammgruppen A und C in dem Gesamtbild unserer Darstellung in besonderer Weise hervor, und zwar dadurch, daß diese Gruppen — ganz im Gegensatz zu den oben besprochenen — sich überwiegend aus Stämmen zusammensetzen, die an der Mehrzahl der ausgewählten Versuchspflanzen pathogen sind und sich vielfach an einer ganzen Reihe von Wirtspflanzen als stark infektiös erwiesen. Man erhält den Eindruck, daß es sich dabei um ausgesprochen „polyphage" und hochgradig virulente Stammgruppen handelt. Das gilt nach diesem Versuch für die Gruppe A in noch stärkerem Maße als für C, was allerdings nach denErgebnissen des Infektionsversuches I eher umgekehrt zu erwarten gewesen wäre, jedoch muß diese Tatsache nicht notwendigerweise in Widerspruch zu den Ergebnissen dieses Versuches stehen, da Vitalität und Aggressivität sich nicht gegenseitig zu bedingen brauchen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß auch in biologisch-pathologischer Hinsicht Unterschiede zwischen den Stammgruppen bestehen, die aber wenig spezifisch sind, mit Ausnahme der Gruppe „Kartoffelstämme" (Stammgruppe F), bei der eine deutliche Spezialisierung vorliegt.

II. Infektionsversuche an Kartoffeltrieben

1. Versuchsanstellung

Infektionsversuche in Blumentöpfen wurden unter weitgehend konstanten Bedingungen mit allen Stämmen der Gruppen A bis E und der „Restgruppe" („Nichtkartoffelstämme") am 15. April und 15. Mai 1951 und mit 51 Stämmen der Gruppe F („Kartoffelstämme") an den gleichen Kalenderdaten im Jahre 1952 angelegt. Dafür wurden vier gebeizte Kronenhälften von Knollen der Sorte F l a v a jeweils mit einem Stamm durch Auflegen von Myzelstücken auf die Augen infiziert, danach einzeln in 8 cm tiefe Blumentöpfe gelegt und mit steriler, schwach lehmiger Komposterde von 45 % relativer Bodenfeuchtigkeit überschichtet. Jede Versuchsserie enthielt die ge-

nügende Anzahl von Kontrollpflanzen. Die Töpfe standen während des Versuchs in einem sehr feuchten Kellerraum bei einer Temperatur von etwa 20° C. Da sich bei früherer Gelegenheit herausgestellt hatte, daß sich die Bodenfeuchtigkeit in den Töpfen bis zum Auflaufen der Knollen nicht wesentlich verändert, wurde bei diesen Versuchen von den sehr zeitraubenden Kontrollwägungen Abstand genommen. Nach Ablauf von vier Wochen wurden die Pflanzen ausgetopft und einzeln untersucht.

Ein Feldinfektionsversuch wurde unter Anwendung der gleichen Infektionsmethode mit 51 „Kartoffelstämmen" am 1. Mai 1952 angelegt. Die Zahl der infizierten Knollen je Stamm konnte hierbei auf 20 erhöht werden. Die Auswertung erfolgte in entsprechender Weise.

2. Befallsformen bei „Kartoffel-" und „Nichtkartoffelstämmen"

In einer früheren Arbeit (Richter und Schneider [1950]) ist gezeigt worden, daß Kartoffel- und Nichtkartoffelherkünfte des Pilzes verschiedene Symptome an den etiolierten Keimen der Kartoffel erzeugen[1]). Es sollen im folgenden zunächst noch einmal die wichtigsten symptomatischen Unterschiede zwischen „Kartoffel-" und „Nichtkartoffelstämmen" herausgestellt werden,

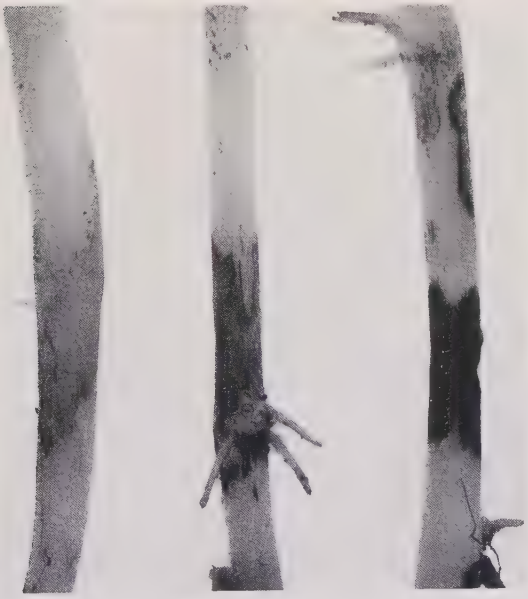


Abb. 15. Die Befallsbilder an Kartoffeltrieben in verschiedenen Stadien wurden hervorgerufen durch einen „Kartoffelstamm" von *Rhizoctonia solani*

Abb. 16. Die Befallsbilder an Kartoffeltrieben wurden hervorgerufen durch „Nichtkartoffelstämme". (7380 = links, IV 10 = rechts)

[1]) Ein erster durchaus entsprechender Hinweis findet sich bei Edson und Shapovalov (1918).

Abb. 17. Verschiedene Befallsbilder an Kartoffeltrieben im Infektionsversuch mit „Nichtkartoffelstämmen". Die Knollen wurden infiziert mit einem Stamm der Gruppe A (links) und der Gruppe C (rechts). (Erklärung im Text)

wobei die Bezeichnung „Kartoffelstamm" nur auf Stämme der Anastomosengruppe F („Kartoffelgruppe") Anwendung finden soll, weil diejenigen Kartoffelherkünfte, die nicht in diese Anastomosengruppe gehören, sich grundsätzlich genau so verhalten wie alle anderen *Rhizoctonia*-Stämme auch.

Bei Infektionen mit „Kartoffelstämmen" treten an den Keimen helle, wäßrig-glasige Flecke auf, die meist schnell größer werden und unter Umständen den ganzen Keim umfassen können (Abb. 15). Das befallene Gewebe sinkt ein, und es entstehen bei einseitigem oder allseitigem Befall entweder tiefe, häufig bis an den Zentralzylinder heranreichende Gewebezerstörungen (Erosionsfäule), oder es kommt, wenn der Pilz bis zu den Gefäßen vordringt, sehr schnell zu einer Totalfäule des Keimes. Der Trieb welkt und stirbt ab.

Durch „Nichtkartoffelstämme" werden auffällige, nadelstich- bis strichförmige Nekrosen hervorgerufen, vielfach in unübersehbarer Menge und so dicht nebeneinander, daß sie ineinander übergehen und kaum noch als Einzelherde wahrzunehmen sind (Abb. 16). Es entstehen auf diese Weise entweder verbräunte Stellen oder, bei Befall durch besonders aggressive Stämme, schwach eingesunkene Flecke (Erosionsbefall), die sich dann aber stets durch Farbton und trockene Beschaffenheit auf den ersten Blick von „Kartoffelstamminfektionen" unterscheiden lassen. Im einzelnen variiert das Erscheinungsbild. So rufen Stämme der Anastomosengruppe A in typischer Ausprägung zarte Verbräunungen hervor, die als Querbänder um den Keim verlaufen (Abb. 17 links), während bei den von den übrigen Stämmen erzeugten Krankheitsbildern eine regelmäßige Anordnung der Infektionsstellen auf den Keimen fehlt (Abb. 17 rechts).

3. Die Pathogenität der Kartoffelstämme

Nach den bisher gemachten Erfahrungen (siehe auch DUGGAR [1899], ROLFS [1904], DRAYTON [1915], GÜSSOW [1917], ROSENBAUM und SHAPOVALOV [1917], K. O. MÜLLER [1923], DANA [1925], SANFORD [1938], LE CLERG [1941 und 1941], HOUSTON [1945], HOFFERBERT und ORTH [1951] u. a.) unterscheiden sich die verschiedenen Kartoffelherkünfte oft beachtlich

in der Intensität ihres parasitischen Angriffsvermögens. Aus diesem Grunde haben wir, um den Aggressivitätsgrad nach Möglichkeit quantitativ zu erfassen, den erzeugten Krankheitsgrad wieder in Wertzahlen[1]) zum Ausdruck gebracht. Der Krankheitsgrad der Einzelpflanze wurde nach dem in Tabelle 8 wiedergegebenen und in Abb. 18 dargestellten Bewertungsschema festgelegt.

Tabelle 8

Bewertungsschema der durch *Rhizoctonia solani* („Kartoffelstämme") verursachten Schäden an Kartoffeltrieben

Befallsgrad	Charakteristik des Krankheitsbildes
0 (Abb. 18 a)	Alle Triebe gesund
1 (Abb. 18 b)	Einzelne Infektionsstellen (± starker Erosionsbefall) nicht an allen Trieben
2 (Abb. 18 c)	Pflanze „teilgeschädigt", etwa die Hälfte der Triebe stark geschädigt, vermorscht und abgestorben
3 (Abb. 18 d)	Erste Garnitur der Triebe sehr stark geschädigt, vermorscht und abgestorben. Ausbildung von Ersatztrieben
4 (Abb. 18 e)	Alle Keime abgestorben, Pflanze nicht aufgelaufen

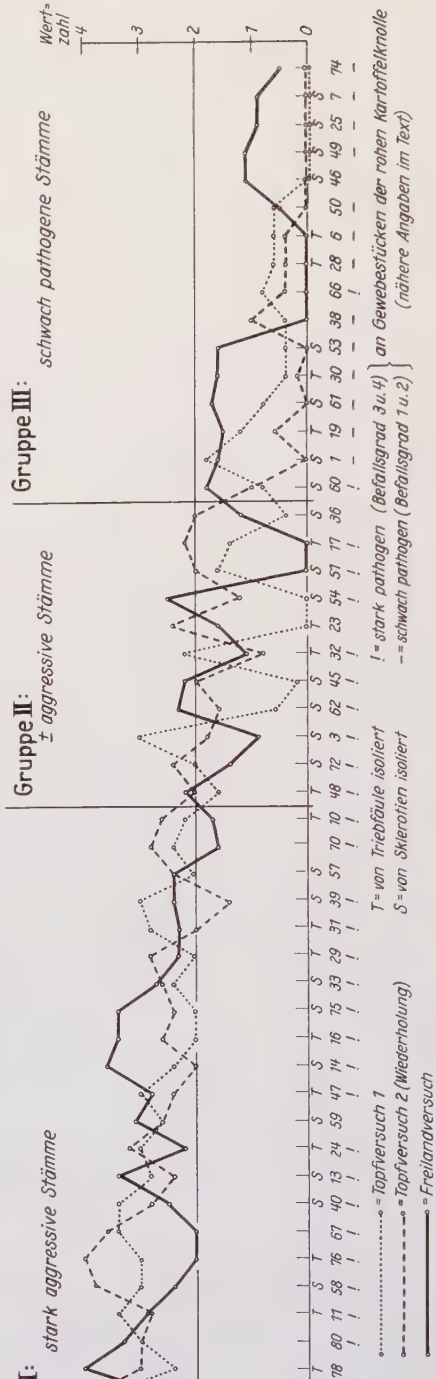
Abb. 18. Schäden an Kartoffeltrieben im Infektionsversuch mit *Rhizoctonia solani* („Kartoffelstämme") Verschiedene Befallsgrade (4 ← 1). Rechts Kontrollen (a). (Erklärung im Text)

Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen sind in Abb. 19 graphisch dargestellt. Die Infektionsergebnisse der beiden Gefäßversuche werden durch die Kurven 1 und 2, die des Freilandversuches durch die Kurve 3 veranschaulicht. Daraus ergibt sich als wichtigster Befund, daß konstante quantitative

[1]) Berechnung erfolgte wie auf S. 200 nach der Formel:

$$\frac{\text{Summe (Anzahl d. Pflz. je Befallsgrad} \times \text{Befallsgrad)}}{\text{Gesamtzahl der Pflanzen}}$$

Unterschiede in der Aggressivität der benutzten Pilzstämme vorhanden sind. Wie nicht anders zu erwarten war, konnte eine Übereinstimmung der Ergebnisse zwischen den einzelnen Versuchsreihen nur innerhalb bestimmter Grenzen erzielt werden. Dies ist schon insofern nicht verwunderlich, als bereits bei der Bewertung der Befallsgrade in den drei Versuchsreihen, die ja zu verschiedenen Zeiten erfolgte, subjektive Abweichungen nicht zu vermeiden waren. Darüber hinaus traten jedoch Befallsunterschiede auf, die ohne jeden Zweifel durch Schwankungen in der Aggressivität erklärt werden müssen, um so mehr, als wir im Verlauf von vier Jahren auch bei weitgehender Konstanthaltung der Kultur-, Umwelt- und Versuchsbedingungen vorübergehende Veränderungen (Virulenzsteigerung oder -schwächung) bei einer ganzen Reihe von Stämmen mit absoluter Sicherheit festgestellt haben. Divergenzen zwischen den Gefäßversuchen einerseits und dem Freilandversuch andererseits können sich auch daraus ergeben haben, daß die Aggressivität namentlich bei den labileren Stämmen durch den Einfluß der „Umwelt" in stärkerem Maße modifiziert wurde. Immerhin ist aber die Tatsache, daß die Infektionsergebnisse des Freilandversuches im großen und ganzen nicht aus dem Rahmen fallen und sich innerhalb derselben Grenzen bewegen wie die Resultate der Gefäßversuche, von grundsätzlicher Bedeutung und spricht sehr eindeutig dafür, daß es sich bei den zwischen den geprüften Stämmen festgestellten Verschiedenheiten in der Agressivität um weitgehend konstante Merkmale handelt.


Gruppe I: stark aggressive Stämme
Gruppe II: ± aggressive Stämme
Gruppe III: schwach pathogene Stämme
Wert-zahl
Stamm K 27 63 22 78 80 11 58 76 67 40 13 24 59 47 14 16 75 33 29 31 39 57 70 10 48 72 3 62 45 32 23 54 57 17 36 60 1 19 61 30 53 38 66 28 6 50 46 49 25 7 74
T S T T T S T S T S

Bei einer Einteilung der Stämme nach dem Grade der von ihnen hervorgerufenen Erkrankung lassen sich etwa die in Abb. 19 abgegrenzten drei Gruppen unterscheiden. Dabei wurde als Maßstab für die Beurteilung die Wertzahl 2 zugrunde gelegt, durch die ein mittlerer Krankheitszustand (mittlerer Grad der Beschädigung siehe auch Tabelle 8 und Abb. 18 c) gekennzeichnet wird. Als „stark aggressiv" können demzufolge die in der Gruppe I, Abb. 19, dargestellten 24 Stämme bezeichnet werden, wo durch die Tatsache, daß zumindest zwei Versuchswerte oberhalb 2 und kein Wert — von drei Ausnahmen abgesehen — darunter liegen, zum Ausdurck gebracht wird, daß diese Stämme durchschnittlich einen stärkeren Grad der Erkrankung erzeugen. Demgegenüber läßt sich für die Gruppe II eine deutliche Abschwächung des Krankheitsgrades erkennen. Hier liegt durchschnittlich nur ein Versuchswert auf oder wenig oberhalb der durch die Wertzahl 2 gekennzeichneten Linie. In dieser Gruppe sind fernerhin auch die Divergenzen zwischen den Ergebnissen der drei Versuchsreihen relativ am stärksten ausgeprägt. Es dürfte sich hier überwiegend um Stämme handeln, die, in ihrem pathogenen Verhalten labiler, durchaus in der Lage sind, einen mittleren Grad der Erkrankung zu erzeugen, häufiger aber nur Beschädigungen harmloser Natur hervorrufen. Wir bezeichnen diese Gruppe von elf Stämmen als ±-aggressiv. In der III. Gruppe wird die Wertzahl 2 in keinem einzigen Fall erreicht. Dafür ist bei fast allen Stämmen zumindest einmal der Wert 0 verzeichnet. Diese Zahlen lassen darauf schließen, daß die hier genannten 16 Stämme so schwach pathogen sind, daß unter Umständen kein Befall mehr stattfindet.

Einen besonderen Hinweis verdient endlich die Tatsache, die sich aus Abb. 19 ohne weiteres ergibt, daß bei diesen Infektionsversuchen nicht ein einziger Stamm angetroffen wurde, der als völlig apathogen oder richtiger gesagt: als „infektionsuntüchtig" bezeichnet werden kann. Die gleichen Verhältnisse wurden bei entsprechenden Untersuchungen von Houston (1945) festgestellt, p. 384/385: „In the inocculation trials the isolates of this type[1]) were variable in regard to their phatogenicity on potato but all produced some disease." Nach diesen Befunden ist zu erwarten, daß unter Kartoffelherkünften (innerhalb der „Kartoffelgruppe" = Stammgruppe F) Stämme, die an der Kartoffel niemals infektiös sind, zumindest eine Seltenheit darstellen werden.

Wiederholt ist die Frage aufgeworfen worden, ob Sklerotienherkünfte die Kartoffel unter Umständen weniger heftig angreifen als die von Triebfäule isolierten Stämme. So z. B. stellt sich Person (1945) auf den Standpunkt, daß die Sklerotienherkünfte als ungefährlich angesehen werden können! Daß diese Ansicht zumindest keine Allgemeingültigkeit hat, läßt sich ebenfalls aus Abb. 19 ersehen. Dort finden wir in der Gruppe I („hochgradig pathogene Stämme") elf von Triebfäule und zehn von Sklerotien isoliert; in der Gruppe II beträgt das Verhältnis 4 : 7 und in der Gruppe III sind vier Triebfäuleherkünfte und acht Sklerotienherkünfte vertreten. Wie zu erwarten war, läßt sich ein gegensätzliches Verhalten dieser beiden Herkunfts-

[1]) = type C, vornehmlich Kartoffelherkünfte.

gruppen nicht erkennen. Selbstverständlich wird man bei Isolierungen unmittelbar aus dem befallenen und zerstörten Gewebe heraus mit einem höheren Anteil stark pathogener Stämme rechnen müssen, als wenn man von den Sklerotien ausgeht, die in der saprophytischen Phase des Pilzes gebildet werden und unter denen sich gleichermaßen stark und schwach pathogene Stämme verbergen müssen, sofern nicht letztere zu einer besonders üppigen Sklerotienentwicklung neigen, was offensichtlich nicht der Fall ist und auch im Verhalten der Stämme in der Reinkultur nicht festgestellt werden konnte.

Es ist bekannt, daß mit der Dauer der Laboratoriumskultur die Virulenz eines Krankheitserregers herabgesetzt werden oder ganz verloren gehen kann. Für *Rhizoctonia solani* liegen entsprechende ebenso wie auch gegenteilige Erfahrungen vor (BRAUN, 1930, S. 79). Bei den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich, daß bei *Rhizoctonia*-Stämmen die Angriffsfähigkeit bei fortdauernder Reinkultur sehr wohl erhalten bleiben kann, auch wenn zwischendurch keine Wirtspassage erfolgt. Diese Beobachtung konnten wir vor allem an einigen Stämmen aus der Gruppe der „hochaggressiven" (K 11, K 47, K 14, K 13, K 10) machen. Die Virulenz dieser in den Jahren 1943 bis 1945 isolierten Stämme zeigte zwar im Verlauf von vier Jahren zeitweilig, aber immer nur sehr vorübergehend Schwankungen, aber niemals in solchem Umfange, daß dadurch der parasitische Effekt wesentlich in Frage gestellt worden wäre.

4. Pathogenität der „Nichtkartoffelstämme"

Eine Übersicht über das Verhalten der „Nichtkartoffelstämme" gibt Tabelle 9. Im Gegensatz zu den „Kartoffelstämmen" waren bis auf einige Ausnahmen a l l e „Nichtkartoffelstämme" einschließlich solcher Kartoffelherkünfte, die sich wegen ihrer Unfähigkeit, mit „Kartoffelstämmen" Anastomosen zu bilden, als „unechte" Kartoffelstämme herausgestellt haben, an der Kartoffel n i c h t oder nur schwach pathogen. Es soll auch an dieser Stelle noch einmal hervorgehoben werden, daß sich die „Nichtkartoffelstämme", außer durch ihr sehr viel geringeres An-

Abb. 20. Befallsbilder an Kartoffeltrieben im Infektionsversuch mit *Rhizoctonia solani* („Nichtkartoffelstämme"). Links Stamm C 11; Mitte Stamm C 15; rechts Stamm C 19. Stamm C 15 und C 19 sind Kartoffelherkünfte. (Erklärung im Text)

Tabelle 9 Pathogenität der Nichtkartoffelstämme an Kartoffel

Gruppe A				Gruppe C				Gruppe D				Restgruppe			
Rhiz.-Stamm		Versuch		*Rhiz.*-Stamm		Versuch		*Rhiz.*-Stamm		Versuch		*Rhiz.*-Stamm		Versuch	
		I	II			I	II			I	II			I	II
A 1	I 24 a	0	0	C 1	D 46	++	++	D 1	II 36	+	0	1	7381	0	0
A 3	I 57	0	0	C 2	D 47	++	++	D 3	R 308	0	0	2	**7288**	+	+
A 4	NB 1	+	+	C 3	D 70	++	++	D 4	R 309	0	0	3	V 39	0	0
A 5	K 3	0	+	C 4	D 82	0	0	D 5	R 310	0	0	4	S 2	0	0
A 6	D 235	0	0	C 5	7344	++	++	D 6	R 311	0	0	5	S 14	0	0
A 7	7384	0	0	C 7	7345	+++	+++	D 7	7290	0	0	6	7173	0	0
A 8	7417	+	+	C 8	7391	++	++	D 8	7248	0	0	7	7306	0	0
A 9	7415	+	+	C 9	7393	+++	+++	D 9	D 8	0	0	10	7382	0	0
A 10	7380	++	++	C 10	7398	0	0	D 10	R 332	+	0	11	7396	0	0
				C 11	Pe 3	++	++	D 11	S 23 b	+	0	14	F 15	0	0
				C 12	IV 47	++	++	D 12	**7310**	++	++	15	La 102	0	0
Gruppe B				C 13	IV 10	+++	+++	D 13	**7319**	++	++	18	**7395**	+	+
				C 14	D 63	0	0	D 14	7335	0	0	19	**7392**	+++	++
B 1	Mt 4	+	0	C 15	**7334**	++	++	D 15	7336	0	0	20	**7372**	+	+
B 2	Lb 15	++	+	C 16	7368	0	0	D 16	7337	0	0	21	D 86	0	0
B 3	Kl 53	++	++	C 17	7402	++	++	D 17	C 1	0	0	22	Ph 6	0	0
B 4	D 52	++	++	C 18	**7394**	++	++	D 18	7401	+	+				
B 5	D 17	+	0	C 19	7412	0	0								
B 6	D 56	++	++	C 20	7424	++	++								
B 7	D 94	0	0	C 21	7418	++	++								
B 8	D 95	0	0	C 22	7428	+++	++	Gruppe E							
B 9	**H 851**	0	0	C 23	7438	0	+	E 1	D 27 b	0	0				
B 10	Ph 2	0	0	C 24	7441	+	0	E 2	**7423**	++	++				
B 11	7442	++	++	C 26	7444	++	++	E 3	La 101	+	0				
B 12	7292	0	0	C 27	7446	++	++	E 4	La 48	0	0				
—	La 53	0	0	C 28	7429	+++	+++	E 5	7425	+	0				

Zeichenerklärung:

\+ = Epidermisverbräunungen od. vereinzelt stichförmige Infektionsstellen. (Nur oberflächlich.)

++ = Leichter Erosionsbefall. (Alle Keime überhäuft mit dicht nebeneinanderliegenden und ineinander übergehenden ±tiefen „Strichnekrosen".)

+++ = Starker Erosionsbefall. (Alle Keime mit tiefen Stengelwunden.)

Fettdruck = Stämme von Kartoffel isoliert.

Abb. 21. Starke Schäden an Kartoffeltrieben im Infektionsversuch durch *Rhizoctonia solani* („Nichtkartoffelstämme"). Links Kontrollen. (Erklärung im Text)

griffsvermögen, durch einen völlig anderen Infektionstypus von den „Kartoffelstämmen" unterscheiden. An der Erzeugung der recht charakteristischen, aber für „Kartoffelstämme" untypischen „Strichnekrosen" gaben sich auch die von Kartoffel isolierten Stämme B 9, C 15, C 18, D 12, D 13, E 2, 2, 18, 19, 20 eindeutig als „unechte" Kartoffelstämme zu erkennen (Abb. 20).

Wie aus Tabelle 9 zu ersehen ist, waren von den 86 geprüften „Nichtkartoffelstämmen" an den Kartoffeltrieben 40 Stämme n i c h t pathogen; 17 Stämme riefen nicht als eigentliche Beschädigungen anzusprechende leichte pathologische Veränderungen, wie Verbräunung der Epidermis, oder vereinzelt wenige Millimeter lange Infektionsstellen hervor. Die übrigen 29 „Nichtkartoffelstämme" waren in der Lage, auch die Kartoffeltriebe zu befallen. Mit Ausnahme der Stämme C 13, C 7, C 9, C 22, C 28, 19, die durchaus starken Befall verursachten, der im Grade dem der „Kartoffelstamminfektion" nicht nachsteht (Abb. 21), wurde durch diese mit der Signatur ++ gekennzeichneten Stämme überwiegend leichter Erosionsbefall erzeugt. Was schließlich die Verteilung von pathogenen und nichtpathogenen Stämmen auf die einzelnen Anastomosengruppen anbetrifft, so zeigt sich, daß die pathogenen Stämme fast ausschließlich in die Gruppe C gehören, in der sie im übrigen auch zahlenmäßig überwiegen. Auch ist der von „Nichtkartoffelstämmen" erreichte höchste Befallsgrad (+++) durch fünf Stämme in dieser Gruppe vertreten. Es sind dies im wesentlichen die gleichen Stämme, die auch unter den Bedingungen des Sämlingsinfektionsversuches I als stark pathogen auffielen.

5. Besprechung der Ergebnisse und Vergleich mit den Befunden anderer Autoren

Die Versuche haben ergeben, daß nur die Stämme der Anastomosengruppe F („Kartoffelgruppe"), die fast ausschließlich von Kartoffel isoliert wurden, an der Kartoffel stark schädigend auftreten, während alle anderen, nicht von dieser Wirtspflanze stammenden Herkünfte einschließlich einiger von Kartoffel isolierter Stämme, die aber anastomosenmäßig nicht in die kartoffelstämmen" erreichte höchste Befallsgrad +++ durch fünf Stämme nicht oder nur ganz schwach angreifen. Da die „Kartoffel-*Rhizoctonia*-

Stämme" bei unseren Sämlingsinfektionsversuchen an anderen Wirtspflanzen nicht im eigentlichen Sinne pathogen waren, ist anzunehmen, daß diese Gruppe weitgehend auf die Kartoffel spezialisiert ist, während alle anderen *Rhizoctonia*-Herkünfte („Nichtkartoffelstämme") auf anderen Wirtspflanzen bessere Angriffsmöglichkeiten zu haben scheinen. Das schließt nicht aus, daß gelegentlich auch unter den „Nichtkartoffelherkünften" Stämme angetroffen werden, die auch die Kartoffel stärker befallen. Jedenfalls wird man nicht fehlgehen, wenn man annimmt, daß die an der Kartoffel auftretenden starken *Rhizoctonia*-Schäden in Deutschland und wahrscheinlich auch in den übrigen europäischen Ländern durch Stämme der auf diese Wirtspflanze spezialisierten „*Rhizoctonia*-Kartoffelgruppe" hervorgerufen werden. Für die außereuropäischen Länder möchten wir diese Behauptung nicht mit der gleichen Ausschließlichkeit aufstellen. Es ist sogar sehr wahrscheinlich, wie später noch zu zeigen sein wird, daß erhebliche *Rhizoctonia*-Schäden, vornehmlich wohl in den USA und Australien, durch n i c h t auf die Kartoffel spezialisierte, mehr oder weniger „polyphage" *Rhizoctonia*-Stämme hervorgerufen werden können.

Diese Befunde sind für die landwirtschaftliche Praxis nicht ganz ohne Bedeutung. Es ergibt sich daraus, daß erstens eine Vorbeugung gegen die *Rhizoctonia*-Schäden an Kartoffeln durch einen weitschichtigen Fruchtwechsel nicht ausgeschlossen erscheint, und daß zweitens eine Übertragung der Krankheit von der Kartoffel auf andere Kulturpflanzen und umgekehrt in größerem Umfange jedenfalls in Deutschland nicht befürchtet zu werden braucht.

Angaben darüber, daß Kartoffelherkünfte in der Hauptsache nur die Kartoffel angreifen und auf anderen Wirtspflanzen keine oder nur Schäden von untergeordneter Bedeutung hervorrufen, sind in der *Rhizoctonia*-Literatur bereits in größerer Zahl vorhanden: Müller, K. O. (1923), Gratz (1925), Wellmann (1932), Lauritzen (1929), Benett (1935), Schultz (1936), Ullstrup (1936), Tervet (1937), Le Clerg (1934), Dennis (1941), Sanford (1941), Person (1944), Houston (1945), Smith (1945). Auch über das Verhalten der „Nichtkartoffestämme" (*Rhizoctonia*-Herkünfte von anderen Wirtspflanzen) auf der Kartoffel liegen Beobachtungen und Untersuchungsergebnisse vor, die mit den eigenen Befunden weitgehend übereinstimmen (Müller, K. O. [1923], Gratz [1925], Schultz [1936]). Demgegenüber werden in der Literatur nun auch Fälle beschrieben, wo offenbar durch an Kartoffeltrieben stark pathogene *Rhizoctonia*-Stämme auch an anderen Pflanzenarten ernsthafte Schädigungen hervorrufen und umgekehrt durch „Nichtkartoffelstämme" erhebliche Verluste an Kartoffel herbeigeführt wurden (Le Clerg [1934, 1938, 1941], Hynes [1937], Buchholtz [1937], Maxson [1939], Leach [1941], Houston [1945], Houston und Kendrick [1949] u. a.).

Buchholtz (1937) berichtet über einen Fall aus Iowa, wo im Jahre 1935 ganz eindeutig durch den Anbau von Zuckerrübe nach Kartoffel starke Ausfälle bis zu 50 % durch *Rhizoctonia*-Wurzelfäule verursacht wurden. Beobachtungen über den Einfluß der Fruchtfolge auf das Auftreten von Zucker-

rüben-Wurzelfäule im „Great Western Sugar Company territory" der USA in den Jahren 1937/1938 von MAXSON (1939) ergaben, daß bei Kartoffel als Vorfrucht ebenso wie durch ununterbrochenen Anbau von Zuckerrübe eine Steigerung der Krankheitsfälle erzielt wurde, während bei Mais und Getreide als Vorfrucht die Ausfälle sehr viel geringer blieben. Umfangreiche Untersuchungen über *Rhizoctonia solani* als Parasit der Zuckerrübe sind von LE CLERG (1934, 1938, 1941) durchgeführt worden. Er kommt (1934) zu dem Ergebnis, daß Kartoffelstämme an Zuckerrübe (Wurzel) nicht, dagegen an Luzerne (Sämling) stark pathogen sind. 1938 stellt er fest, daß von insgesamt 144 Kartoffelstämmen nur drei Stämme (Herkünfte von schwer geschädigten Kartoffeltrieben) starke Wurzelfäule an Zuckerrübe hervorriefen, während 25 Stämme eine lokal begrenzte Fäule der Wurzel erzeugten und 116 Stämme (Herkünfte von *rhizoctonia*-kranken älteren Kartoffelstauden und von Sklerotien) absolut negative Ergebnisse lieferten. 1941 erhielt er bei Infektionsversuchen an Zuckerrübe und Roter Rübe mit 89 Kartoffelstämmen (Herkünfte von *rhizoctonia*-kranken älteren Kartoffelstauden, Triebfäule und Sklerotien) ebenfalls negative Resultate; mit Kartoffel-Stolonenherkünften eine stärkere Wurzelfäule und umgekehrt durch Zuckerrübenstämme starke Triebschäden an Kartoffel. Besonders aufschlußreich sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungsbefunde von HOUSTON (1945). Die von ihm auf Grund von besonderen morphologischen Merkmalen auf der Kultur unterschiedenen Stammgruppen „culture type B" (ausschließlich Zuckerrübenherkünfte) und „culture type C" (überwiegend Kartoffelherkünfte) zeigten bei Infektionsversuchen eine stärkere Bindung an die eigene Wirtspflanze, während die Stämme der ebenfalls auf Grund von morphologischen Unterscheidungsmerkmalen differenzierten Stammgruppe „culture type A" (Herkünfte von Bohne, Baumwolle, Zuckerrübe, Kartoffel, Spinat, Rhabarber u. a.), völlig unabhängig von ihrer Herkunft an sehr vielen verschiedenen Wirtspflanzen, unter denen sich auch Kartoffel und Zuckerrübe befanden, stark schädigend auftraten. Diese Befunde stehen mit den eigenen Ergebnissen in guter Übereinstimmung und machen es wahrscheinlich, daß es sich in allen Fällen, in denen Kreuzinfektionen mit Zuckerrüben- und Kartoffelherkünften positiv ausfielen und starke Beschädigungen und Verluste zur Folge hatten, um Befall durch ausgesprochen polyphage, hochvirulente Stämme (Anastomosengruppe C bei uns oder „culture type A" bei HOUSTON) gehandelt hat. Keineswegs dürften Schäden durch *Rhizoctonia*-Stämme der auf diese Wirtspflanzen weitgehend spezialisierten Gruppen („Kartoffelgruppe" bei uns oder „culture type C" bzw. „culture type B" bei HOUSTON) vorgelegen haben.

Entsprechend dürften sich auch die Befunde von HYNES (1937) erklären lassen, der bei allerdings recht umfangreichen Kreuzinfektionen mit „Getreide-" und „Kartoffelstämmen" positive Ergebnisse erhielt. Die Tatsache, daß sich die außereuropäische Literatur sehr eingehend und immer wieder mit der Übertragbarkeit der *Rhizoctonia*-Krankheit von Kartoffel auf Zuckerrübe und andere Kulturpflanzen oder umgekehrt befaßt, läßt darauf schließen, daß vornehmlich in den USA namhafte Schäden an Kartoffel durch hoch-

gradig virulente und ausgesprochen plurivore *Rhizoctonia*-Stämme keine Seltenheit sind. In diesem Zusammenhang ist zumindest sehr auffällig, daß von den von uns aus dem Ausland bezogenen 32 Kartoffelherkünften immerhin neun Stämme nicht in die „Kartoffelgruppe" gehören, während sich unter den 51 deutschen Kartoffelherkünften nur zwei „Nichtkartoffelstämme" befanden (Tabelle 1). Von den ausländischen nicht in die „Kartoffelgruppe" gehörigen Kartoffelherkünften war übrigens der größere Teil auch im Infektionsversuch an Kartoffeltrieben schwach pathogen.

III. Infektionsversuch an Gewebestücken der rohen Kartoffelknolle

In der Literatur wird mehrfach erwähnt, daß *Rhizoctonia solani* auch an der Knolle der Kartoffel schädigend auftreten und Fäulnis erregen kann (Shapovalov [1922], Thatscher [1942]). Diese Tatsache (Abb. 22) ist zwar im Hinblick auf praktische Belange kaum von Bedeutung, erscheint jedoch in Verbindung mit bestimmten wissenschaftlichen Fragestellungen von Interesse. Corsant (1915) stellte erstmalig fest, daß bei Infektion roher steriler Kartoffelstückchen sich Unterschiede in der Anfälligkeit der Kartoffelsorten zu erkennen geben. Im Zusammenhang mit den Bemühungen um ein einfaches Prüfverfahren für das Anfälligkeitsverhalten der Kartoffelsorten griffen wir unter anderem auch auf die Beobachtungen von Corsant zurück, konnten zunächst aber keine Zersetzung des Knollengewebes durch den Pilz erreichen (Richter und Schneider, 1950). Zu dem gegenteiligen Ergebnis gelangten Hofferbert und Orth (1951), die die Angaben von Corsant über unterschiedliche Anfälligkeit der Kartoffelsorten bestätigen. Wie sich nachträglich herausstellte, war das negative Ergebnis unserer Versuche auf ungünstige Feuchtigkeitsverhältnisse zurückzuführen. In Anbetracht der Tatsache, daß Knollengewebeinfektionen bei hoher Luftfeuchtigkeit (relative Dampfspannung von 100 %) mühelos gelingen und in verhältnismäßig kurzer Zeit zu Ergebnissen führen, erschien es möglich, dieses Verfahren zur Differenzierung unseres *Rhizoctonia*-Materials zu erproben.

Abb. 22. Kartoffelknollenfäule durch *Rhizoctonia solani* 14 Tage nach der Infektion

Bei diesen Versuchen wurden in Anlehnung an die von Hofferbert und Orth entwickelte Methode Gewebestücken (4 cm hoch und 1 cm Durchmesser)

aus sorgfältig gereinigten und desinfizierten Knollen herausgeschnitten, in sterile Kulturröhrchen übertragen und auf mehrfach gefaltete, 2,5 cm hohe mit Wasser gut durchfeuchtete Fließpapierstreifen aufgesetzt, die sich am Boden der Röhrchen in einem Überschuß von Wasser befanden. Die Röhrchen wurden nicht, wie üblich, durch Wattestopfen, sondern, um Austrocknung zu verhindern, mit Pergamentpapier verschlossen. Die Infektion erfolgte durch Auflegen von pilzdurchwachsenen Agarscheiben von 0,5 cm Durchmesser, die mit dem Korkbohrer aus der Randregion von vier Tage alten, eben bewachsenen Petrischalenkulturen ausgestochen wurden. Danach gelangten die beimpften Röhrchen zu je 50 bis 70 Stück in Feuchtkammern und wurden im temperaturkonstanten Raum bei 25 ° C bebrütet. Alle beschriebenen Manipulationen wurden mit großer Sorgfalt und so steril wie möglich durchgeführt. Auf diese Weise gelang es, auch beim Ansatz der sehr umfangreichen Versuchsserien Fremdinfektionen praktisch auszuschalten. Nach der oben beschriebenen Methode wurden Knollenstücke der nach eigenen Feststellungen relativ „schwach anfälligen" Sorte Erstling und der „hoch anfälligen" Sorten Immertreu bzw. Voran mit „Kartoffelstämmen" und „Nichtkartoffelstämmen" infiziert. Von jedem Stamm wurden vier Parallelinfektionen angelegt. Der Versuch wurde im Verlauf von zehn Monaten viermal wiederholt. Als Kontrollen dienten nicht beimpfte Kartoffelstücken, die jedem Ansatz in größerer Anzahl beigegeben wurden. Die Bonitierung der infizierten Kartoffelstücke erfolgte jeweils nach zehn Tagen entsprechend dem untenstehenden, in vier Klassen abgestuften Schema (Tabelle 10). Die mit den Zahlen 1 bis 4 bewerteten Krankheitsbilder sind in Abb. 23 dargestellt.

Tabelle 10

Bewertungsschema für rhizoctoniainfizierte Gewebestücke der Kartoffelknolle

Krankheitsgrad	Charakteristik des Krankheitsbildes zehn Tage nach der Infektion
1	Gewebestücke kaum oder spärlich bewachsen, nur die Zellagen unterhalb des Impfstückes verbräunt
2	Gewebestücke 1/3 bis ½ bewachsen, verbräunte Zonen unterhalb des Wundrandes (Gewebe beim Anstechen weich, in sich zusammensinkend) aber tiefer gelegene Gewebeschichten noch unverändert
3	Gewebestücke stark bewachsen, Sklerotien ausgebildet. Beim Anstechen breiartig zerfallend (nicht zerfließend). Zellverband stark gelockert
4	Gewebestücke sehr stark bewachsen, sehr starker Sklerotienbesatz, beim Anstechen zerfließend. Zellverband vollständig gelöst

Alle Stämme, die die rohe Kartoffel als Nährsubstrat auszunutzen vermögen, bewuchsen mehr oder minder schnell und üppig Knollenstückchen, Filtrierpapierstreifen und Glasrand. An der Ausbildung eines lockeren, weißen bis schwach gelblichen Luftmyzels waren auch hier die Gruppen der „Nicht-

kartoffelstämme" auf den ersten Blick von den „Kartoffelstämmen" zu unterscheiden, die das Gewebestückchen mit einem braunen Hyphengeflecht und kompakten Auflagerungen von dunkelbraun gefärbten Pseudosklerotien überzogen.

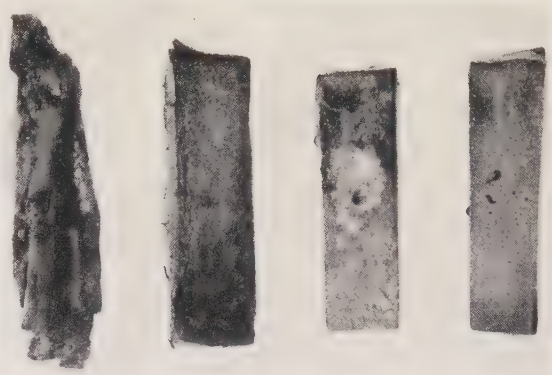


Abb. 23. Mit *Rhizoctonia solani* infizierte Kartoffelstücke nach 10 Tagen. (Verschiedene Befallsgrade 4 ← 1). (Erklärung im Text)

Es konnten ganz erhebliche Virulenzunterschiede zwischen den einzelnen *Rhizoctonia*-Stämmen festgestellt werden. Einerseits fanden wir Stämme, die nach zehn Tagen nur eine Nekrotisierung der Zellen an der Infektionsstelle hervorgerufen hatten, und andererseits solche, die innerhalb von etwa vier Tagen das Gewebe in einen regelrechten Faulbrei umgewandelt hatten. Zwischen diesen beiden, die extremen Typen darstellenden Gruppen standen in ihrem Verhalten alle übrigen Stämme, durch die langsam, aber als Endstadium ebenfalls eine vollkommene Zersetzung des Wirtsgewebes herbeigeführt wurde. Der Zustand der in diesem Stadium stark verjauchten Gewebestückchen gleicht in auffallender Weise der durch *Bacterium phytophthorum* hervorgerufenen Naßfäule. Da es bei den geschilderten Serienversuchen mit rohen Kartoffelstücken praktisch nicht möglich ist, völlig steril zu arbeiten, enthielt das zersetzte Gewebe im Endstadium in der Regel ±-große Mengen Bakterien. Bereits durch mikroskopische Kontrolle schwächer zersetzter Gewebestücke zu Beginn des Prozesses ließ sich unschwer erkennen, daß sich die Bakterienflora erst sekundär saprophytisch entwickelt. Außerdem gelang es in keinem Falle, aus dem Faulbrei Bakterienstämme zu isolieren, die primär zu einem Angriff auf das rohe Kartoffelgewebe befähigt sind. Damit soll keineswegs bestritten werden, daß sicherlich im Stadium der vollkommenen Zerrottung des Knollenstückes Bakterien an der Desorganisation des Wirtsgewebes beteiligt sind.

Zur Erklärung dieser durch den Pilz verursachten Naßfäule, einer für *Rhizoctonia solani* immerhin auffälligen Erscheinung, können wir annehmen, daß durch den Pilz enzymatische Prozesse ausgelöst werden (Pektinaseausscheidung), die die restlose Mazeration des Gewebes — bei einigen Stämmen in verhältnismäßig kurzer Zeit — zur Folge haben. Die mikroskopische Untersuchung ergab eindeutig, daß der Pilz in der Hauptsache nur die an die Wundfläche angrenzenden, unter seinem Einfluß nekrotisierten Gewebeschichten intrazellular besiedelt. Von hier aus dringen die Hyphen interzellular unter Spaltung der Mittellamelle in tiefer gelegene Gewebepartien, stoßen aber selten bis in das Innere des Gewebestückchens vor. Durch dem Pilz voraufdiffundierende Ausscheidungsprodukte werden die pilzfreien Gewebe-

partien in ihrem Zellverband gelockert. Die Zellen trennen sich an der Mittellamelle voneinander und sind im mikroskopischen Präparat als „freie Zellen" in der Untersuchungsflüssigkeit aufgeschwemmt. Der gleiche Effekt — vollkommene Mazeration des Knollenparenchyms vorwiegend durch Auflösung der Mittellamellen — wurde erzielt, wenn steril filtrierte Kulturflüssigkeit der Stämme IV 10 und 2208 (filtriert durch Membranfilter Nr. 10) auf die Gewebestückchen einwirkte. Da in abgekochtem, sonst genau so behandeltem Kulturfiltrat keine Auflösung des Zellverbandes erfolgte und das Gewebestückchen unverändert blieb, dürfen wir annehmen, daß die im nichterhitzten Filtrat enthaltenen Ausscheidungsprodukte des Pilzes — wobei vorläufig noch dahingestellt bleiben mag, ob es sich n u r um Pektinase handelt — für die Zersetzung des Gewebes verantwortlich zu machen sind; nicht aber irgendwelche Bakterien, die oft unvermeidlich aus der Korkschale oder aus der Luft auf die Wundfläche gelangten.

Tabelle 11

Ergebnisse des mit allen Stammgruppen durchgeführten Infektionsversuches an Gewebestücken roher Kartoffelknollen

Befallsgrad	Gruppe A		Gruppe B		Gruppe C		Gruppe D Cruciferengruppe		Gruppe E		Gruppe F Kartoffelgruppe	
	Immertreu Voran	Erstling	Immertreu Voran	Erstling	Immertreu Voran	Erstling	Immertreu Voran	Erstling	Immertreu Voran	Erstling	Immertreu Voran	Erstling
0		3	2	3	1	1		2				
1	3	1	3	5	1	7	4	13		1	7	14
2	1	3	5	4	2	10	5	3	2	2	13	11
3	4	3	2		11	8	5	1	2		17	17
4	2				12	1	4	2	1		42	36
Durchschnittl. Befallsgrad	2,5	1,6	1,6	1,0	3,2	2,0	2,5	1,4	2,8	1,7	3,2	3,0
Anzahl d. Stämme	10	10	12	12	27	27	18	21	5	3	79	78

Entsprechend der Fragestellung dieses Kapitels soll auf die Mitteilung umfangreicher Einzelergebnisse verzichtet werden. Wir beschränken uns darauf, das Verhalten der Stammgruppen ohne Benennung der dazugehörigen Stämme einer vergleichenden Betrachtung zu unterziehen. Aus den in Tabelle 11 zusammengestellten Befunden ist ersichtlich, daß in jedem Fall innerhalb einer Stammgruppe quantitative Verschiedenheiten in dem Aggressivitätsgrad der Stämme zum Ausdruck kommen; und zwar sind in allen Gruppen grundsätzlich und ohne Ausnahme — allerdings in wechselndem Verhältnis, wie aus den Zahlenrelationen zu ersehen ist — alle „Erfolgstypen", infektionsuntüchtige, infektionsträge und hochaggressive Stämme, vertreten. Soweit unterscheiden sich also die Gruppen hinsichtlich ihrer Fähigkeit, das paren-

chymatische Gewebe der rohen Kartoffelknolle als Nährsubstrat auszunutzen, nur unwesentlich voneinander. Es läßt sich lediglich erkennen, daß die Gruppe B in ihrem Infektionsverhalten träger ist als die anderen Gruppen und daß die Gruppen C und F („Kartoffelgruppe") die umgekehrte Tendenz aufweisen. Es zeigt sich ferner, daß das unterschiedliche Angriffsvermögen der Stämme und dementsprechend die angedeutete Gruppendifferenzierung besser bei Verwendung der verhältnismäßig „schwach anfälligen" Sorte Erstling als bei den „hochanfälligen" Sorten Immertreu und Voran zum Ausdruck kommt. Wir sind uns jedoch darüber klar, daß sich vor der Hand aus dem vorliegenden Zahlenmaterial, da die untersuchte Individuenzahl zumindest bei fast allen Gruppen der „Nichtkartoffelstämme" noch gering ist, endgültige und zuverlässige Schlüsse nicht ziehen lassen.

Offenbar stellt die Kartoffelknolle für das *Rhizoctonia*-Myzel ein zu unspezifisches Nährsubstrat dar, so daß sich bei der geschilderten Versuchsanstellung keine Differenzierung der Stammgruppen ergibt. Diese Methode ist gewissermaßen zu grob, um feinere Unterschiede zwischen den Stammgruppen zuverlässig zum Ausdruck zu bringen.

Bemerkenswert ist jedoch die Tatsache, die sich aus Abb. 19 ergibt, daß einerseits alle an Kartoffeltrieben stärker pathogenen Stämme auch in der Lage sind, das Gewebe der Knolle anzugreifen und zu zerstören, während andererseits die Mehrzahl der bei Triebinfektionen schwach und nicht pathogenen Kartoffelstämme auch an dem Knollengewebe nur geringere pathologische Erscheinungen auszulösen vermögen. Diese auffälligen Parallelen dürften mehr als zufällige Übereinstimmungen darstellen.

Zusammenfassung

Innerhalb der Art *Rhizoctonia solani* lassen sich erblich fixierte Unterschiede in morphologischer, physiologischer und auch pathologischer Hinsicht nachweisen. Es ist gelungen, ein in bezug auf Wirtspflanzen und geographische Herkunft recht heterogenes Material auf Grund der Fähigkeit der überindividuellen Anastomosenbildung, die für die überwiegende Mehrzahl der untersuchten Stämme nachgewiesen werden konnte, in sechs, engste Verwandtschaftsverhältnisse zum Ausdruck bringende Stammgruppen einzuteilen und diese auch auf Grund von morphologischen Unterscheidungsmerkmalen weitgehend zu kennzeichnen. Es ist damit zu rechnen, daß darüber hinaus noch weitere Stammgruppen existieren. Da sowohl die „Cruciferenherkünfte" als auch die „Kartoffelherkünfte" fast ausnahmslos nur untereinander Anastomosen bilden, konnten sie in entsprechende, nach der Herkunft bezeichnete Gruppen („Cruciferengruppe") und („Kartoffelgruppe") zusammengefaßt werden. In physiologischer Hinsicht ließen sich in bezug auf Wachstumsgeschwindigkeit und Temperaturansprüche charakteristische Unterschiede nur

zwischen einzelnen Stammgruppen nachweisen. Die „Kartoffelgruppe" (Kartoffelherkünfte) unterscheidet sich in beiden Merkmalen stärker von den übrigen Stammgruppen. Es konnte aufgezeigt werden, daß hinsichtlich der Temperaturansprüche der Stämme eine Beziehung zu den Temperaturverhältnissen der geographischen Herkunft besteht und innerhalb bestimmter Grenzen auch zu den Temperaturansprüchen der Wirtspflanze zum Ausdruck kommt. Es wird deshalb angenommen, daß sich innerhalb der Art und innerhalb der Stammgruppen bestimmte Temperaturrassen herausgebildet haben. In ihrem Verhalten gegenüber der chemischen Reaktion des Nährsubstrates unterscheiden sich die Stammgruppen grundsätzlich nicht. Eine biologische Spezialisierung auf bestimmte Wirtspflanzen konnte außer für die „Kartoffelgruppe" nicht nachgewiesen werden. Alle anastomosenmäßig nicht in die „Kartoffelgruppe" gehörigen Stämme, worunter sich auch einige Kartoffelherkünfte befanden, waren bei Infektionsversuchen an Sämlingen, unabhängig von ihrer Herkunft, an einer Reihe von Wirtspflanzen anderer systematischer Stellung pathogen. Dabei zeigten einige Stammgruppen — vornehmlich die „Cruciferengruppe" — eine gewisse „Vorliebe" für bestimmte Wirtspflanzen. Im Gegensatz dazu standen andere, überwiegend polyphage und virulente Stämme enthaltende Stammgruppen, die meist unterschiedslos an allen Versuchspflanzen stark pathogen waren; an ausgesprochen *rhizoctonia*anfälligen ebenso wie an weniger empfindlichen Pflanzenarten verschiedenster systematischer Stellung. Triebschäden an der Kartoffel durch *Rhizoctonia solani* werden vornehmlich durch Stämme der „Kartoffelgruppe" hervorgerufen. Alle von anderen Wirtspflanzen isolierten Stämme einschließlich der anastomosenmäßig nicht in die „Kartoffelgruppe" gehörigen Kartoffelherkünfte waren bis auf wenige Ausnahmen an Kartoffeltrieben nicht pathogen. Die an Kartoffeltrieben pathogenen „Nichtkartoffelstämme" sind in ihrer Wirtswahl ausnahmslos durch ein ausgesprochen unspezifisches Infektionsvermögen gekennzeichnet und rufen an Kartoffeltrieben charakteristische Symptome hervor, die sich auffällig von „echten Kartoffelstamminfektionen" unterscheiden. Innerhalb der „Kartoffelgruppe" konnten quantitative Unterschiede in der Aggressivität nachgewiesen werden. Absolut apathogene, an Kartoffeltrieben infektionsuntüchtige Stämme traten in der Kartoffelgruppe nicht auf. Die schwach pathogenen „Kartoffelstämme" wuchsen auf Gewebestücken der rohen Kartoffelknolle schlecht und waren in der Regel nicht in der Lage, das Knollengewebe stärker anzugreifen. Bei derartigen Infektionsversuchen an Knollenstücken ergaben sich keine zuverlässigen Anzeichen für eine biologische Differenzierung. Alle Stammgruppen waren pathogen, wenn auch graduelle, nicht gruppenspezifische Unterschiede in der Aggressivität der Stämme auftraten.

Literaturverzeichnis

1. Benett, F. T.: *Rhizoctonia* disease of turf. Gdnrs'. Chron. **97**, 1935, 129. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **14**, 449.

2. Boosalis, M. G.: Studies on the parasitism of *Rhizoctonia solani* Kühn on soybeans. Phytopathology **40**, 1950, 820—831.

3. Bosch, E.: Untersuchungen über die Biologie und Bekämpfung des Vermehrungspilzes *Moniliopsis* Aderholdi und *Rhizoctonia solani.* Landw. Jahrb. d. Schweiz **22**, 1948, 792—825.

4. Braun, H.: Der Wurzeltöter der Kartoffel, *Rhizoctonia solani* K. Monographien z. Pflanzenschutz **5**, Verlag J. Springer, Berlin 1930.

5. Briton-Jones, H. R.: Strains of *Rhizoctonia solani (Corticium vagum* Bert. u. Curt.). Trans. Brit. myc. Soc. **9**, 1924, 200—210.

6. Buchholtz, W. F.: A severe case of *Rhizoctonia* root rot of sugar beets after potatoes. Phytopathology **27**, 1937, 1180.

7. Corsant, I. N.: Studies of the *Rhizoctonia* disease of potatoes. Science, N. S. **42**, 1915, 582—583.

8. Dana, B. F.: The *Rhizoctonia* disease of potatoes. Wash. Agr. Exp. Stat. Bull. 191, 1925. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **5**, 249.

9. Dennis, R. W. G.: *Rhizoctonia* rot of swedes. Nature, London, **147**, 1941, 87. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **20**, 190.

10. Drayton, F. L.: The *Rhizoctonia* lesions on potato stems. Phytopathology **5**, 1915, 59—62.

11. Duggar, B. M.: Fungous diseases of plants. Boston, 1909 444—452, 477—479.

12. — —: Three important diseases of the sugar beet. N. Y. (Cornell) Agr. Exp. Stat. Bull. **163**, 1899.

13. Edson, H. A. und Shapovalov, M: Potato stems lesions. Jour. Agr. Res. (U. S.) **14**, 1918, 213—219.

14. Edwards, H. A. und Newton, W.: The physiology of *Rhizoctonia solani* K., V. The activity of certain enzymes of *Rhizoctonia solani* K. Sci. Agr. **17**, 1937, 544—549. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **16**, 700.

15. Elmer, O. H.: Pathogenic and cultural comparisions of strains of *Rhizoctonia solani* K. Ref.: Phytopathology **22**, 1932, 8.

16. Exner, B. und Chilton, S. J. P.: Cultural differences among single basidiospore isolates of *Rhizoctonia solani.* Phytopathology **33**, 1943, 171—174.

17. Flentje, N. T.: Spezialisation and variation in *Rhizoctonia solani* Kühn. Ref.: VII. Internationaler Botanischer Kongreß, Stockholm 1950.

18. Forsteneichner, F.: Die Jugendkrankheiten der Baumwolle in der Türkei. Phytopath. Ztschr. **3**, 1931, 367.

19. GRATZ, L. O.: Wire stem of cabbage. N. Y. (Cornell) Agr. Exp. Stat. Mem. **85**, 1925.

20. GÜSSOW, H. T.: The pathogenic action of *Rhizoctonia* on potato. Phytopathology **7**, 1917, 209—213.

21. HARTLEY, C.: Damping off in forest nurseries. U. S. Dept. Agricult. Bull. **934**, 1921.

22. HOFFERBERT, W. und ORTH, H.: Unsere Arbeiten zur *Rhizoctonia*-Frage bei der Kartoffel. Ztschr. Pflanzenkrht. **58**, 1951, 245—255.

23. HOUSTON, B. R.: Culture types and pathogenicity of isolates of *Corticium solani*. Phytopathology **35**, 1945, 371—393.

24. — — und KENDRICK, J. B.: A crater spot of celery caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology **39**, 1949, 471—474.

25. HYNES, H. J.: Studies of *Rhizoctonia* root rot of wheats and oats. Sci. Bull. Dep. Agric. N. S. W. **58**, 1937, 42. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **17**, 166.

26. KÖHLER, E.: Beiträge zur Kenntnis der vegetativen Anastomosen der Pilze I. Planta **8**, 1929, 140—153.

27. — —: Zur Kenntnis der vegetativen Anastomosen der Pilze II. Planta **10**, 1930, 495—522.

28. KOTILA, J. E.: *Rhizoctonia* foliage blight of sugar beets. Jour. Agr. Res. **74**, 1947, 289—314. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **27**, 304.

29. LAIBACH, F.: Über Zellfusionen bei Pilzen. Planta **5**, 1928, 430—459.

30. — —: Zur Kenntnis der Gattung *Septoria*. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **37**, 1919, 245.

31. LAURITZEN, J. I.: *Rhizoctonia* rot of turnips in storage. Jour. Agr. Res. **38**, 1929, 93—108.

32. LEACH, L. D.: Root rot diseases of sugar beets in California. Sug. Bull. **5**, 1941, 56—57. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **20**, 508.

33. LE CLERG, E. L.: Parasitism of *Rhizoctonia solani* on sugar beets. Jour. Agr. Res. **49**, 1934, 407—431.

34. — —: Further studies on the parasitism of *Rhizoctonia solani* on sugar beets. Phytopathology **28**, 1938, 152—153.

35. — —: Studies on the dry rot canker of sugar beets. Phytopathology **29**, 1939, 793—800.

36. — —: Pathogenicity studies with isolates of *Rhizoctonia solani* obtained from potato and sugar beet. Phytopathology **31**, 1941, 49—61.

37. — —: Comparative studies of sugar beet and potato isolates of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology **31**, 1941, 274—278.

38. — —, PERSON, L. H., MEADOW, S. B.: Further studies of the temperature relations of sclerotial isolates of *Rhizoctonia solani* from potatoes. Phytopathology **32**, 1942, 731—732.

39. Matsumoto, T.: Studies in the physiology of the fungi XII. Physiological specialisation in *Rhizoctonia solani* K. Ann. Missouri Bot. Gard. **8**, 1921, 1—62.

40. Maxson, A. C.: Beet root rot caused by *Rhizoctonia solani*. Proc. Amer. Soc. Sugar beet Technol. 1939, 38—45. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **19**, 1.

41. Müller, K. O.: Über die Beziehungen von *Moniliopsis Aderholdi* zu *Rhizoctonia solani*. Arb. Biol. Reichsanst. **11**, 1923, 321—325.

42. — —: Über die Beziehungen zwischen *Rhizoctonia solani* Kühn und *Hypochnus solani* Prill. et Del. Arb. Biol. Reichsanst. **11**, 1923, 326—330.

43. Peltier, G. L.: Parasitic *Rhizoctonias* in America. Illinois Agr. Exp. Stat. Bull. **189**, 1916, 283—390.

44. Person, L. H.: Parasitism of *Rhizoctonia solani* on beans. Phytopathology **34**, 1944, 1056—1068.

45. — —: Pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia solani* from potatoes. Phytopathology **35**, 1945, 132—134.

46. Richter, H. und Schneider, R.: Untersuchungen zur *Rhizoctonia*-Anfälligkeit der Kartoffelsorten. Züchter **20**, 1950, 257—267.

47. Rolfs, F. M.: Potato Failures. Second Report. Col. Agr. Exp. Stat. Bull. **91**, 1904, 1—33.

48. Rosenbaum, J. und Shapovalov, M.: A new strain of *Rhizoctonia solani* on potato. Jour. Agr. Res. **9**, 1917, 413—419.

49. Ruhland, W.: Beitrag zur Kenntnis des sog. Vermehrungspilzes. Arb. Biol. Reichsanst. **6**, 1908, 71.

50. Samuel, G. und Garret, S. D.: *Rhizoctonia solani* on cereals in South Australia. Phytopathology **27**, 1932, 827.

51. Sanford, G. B.: Studies on *Rhizoctonia solani* Kühn. III. Racial differences in pathogenicity. Canad. Jour. Res. Sect. C. **16**, 1938, 53—64. Ref.: Rev. Appl. Mycol. **17**, 481.

52. — —: Pathogenicity tests on sugar beets of random isolates of *Rhizoctonia solani* K. from potato. Sci. Agr. **21**, 1941, 746—749.

53. Schaffnit, E. und Meyer-Hermann, K.: Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. Phytopath. Ztschr. **2**, 1930, 99—166.

54. Schultz, H.: Vergleichende Untersuchungen zur Ökologie, Morphologie und Systematik des Vermehrungspilzes. Arb. Biol. Reichsanst. **22**, 1936, 1—41.

55. Shapovalov, M.: *Rhizoctonia solani* as a potato-tuber rot fungus. Phytopathology **12**, 1922, 334—336.

56. Smith, O. E.: Parasitism of *Rhizoctonia* from *alfalfa*. Phytopathology **35**, 1945, 832—837.

57. Sprague, R.: *Rhizoctonia solani* on field crops in the west. Phytopathology **37**, 1947, 846.

58. Storey, I. F.: A comparative study of strains of *Rhizoctonia solani* Kühn with special reference to their parasitism. Ann. appl. Biol. **28**, 1941, 219—228.

59. Tervet, I. W.: An experimental study on some fungi injurious to seedling flax. Phytopathology **27**, 1937, 531—546.

60. Thatscher, F. S.: A stem-end rot of potato tubers caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology **32**, 1942, 727—730.

61. Thomas, S. K.: Onderzoekingen over *Rhizoctonia*. Dissertat. Utrecht, 1925.

62. Ullstrup, A. J.: Leaf blight of China aster caused by *Rhizoctonia solani*. Phytopathology **26**, 1936, 981—990.

63. Wellmann, F. L.: *Rhizoctonia* bottom-rot and head-rot of cabbage. Jour. Agr. Res. **45**, 1932, 461—469.

Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode
Direktor: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden

III. Mitteilung:
Eine neue Nachweismethode mit Kresse *(Lepidium sativum)* und Modellversuche über die mikrobielle Zersetzung von Wuchsstofflösungen in Bottichen

Von

C. Stapp und C. Wetter

Mit 4 Abbildungen

Während in der ersten Mitteilung eine biologische Nachweismethode zur quantitativen Bestimmung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure im Boden bekanntgegeben worden ist (1952 a), die gegenüber den bisher in der Literatur aufgeführten eine Verbesserung darstellte, und gleichzeitig über orientierende Versuche, die Haltbarkeitsdauer des Wuchsstoffes im Boden betreffend, berichtet wurde, war in der zweiten Mitteilung (1952 b) ausschließlich auf das Verhalten verschiedener Bakterienarten gegenüber 2,4-D Bezug genommen worden.

Bei Fortsetzung der Versuche über die Zersetzungsgeschwindigkeit von 2,4-D durch Mikroben stellten sich dann Schwierigkeiten insofern ein, als die Erbsen der neuen Ernte 1952 — es handelte sich um Markerbsen der Sorte Thomas Laxton —, die zum Testen benötigt wurden, in ihrer Qualität sehr schlecht ausgefallen waren und außerdem noch je nach Herkunft und Standort sehr starke Schwankungen in der Keimfähigkeit aufwiesen, die im Mittel schon ungewöhnlich niedrig lag. Wir waren deshalb gezwungen, nach einer neuen Testpflanze Ausschau zu halten, die zumindest mit gleicher Genauigkeit auf 2,4-D ansprechen mußte, vielleicht aber noch Vorteile gegenüber den Erbsen als biologischem Test zeigen würde. Über dieses günstigere biologische Nachweisverfahren soll im folgenden berichtet werden, desgleichen über weitere mikrobiologische Abbauversuche, die dazu führten, mit einfachster Methodik Bottiche, die in der Landwirtschaft zur Herstellung von wäßrigen 2,4-D-Lösungen gedient haben, wieder für andere Zwecke einwandfrei verwendbar zu machen.

Anstelle der Erbsen benutzten wir zur biologischen Testung Kresse *(Lepidium sativum)* und legten als Maßstab für die 2,4-D-Wirkung auch hier den Einfluß des Wuchsstoffes auf das Längenwachstum ihrer Primärwurzeln zugrunde, wie dies bereits AUDUS und QUASTEL (1947) und AUDUS (1949/50 und 1951) in einer etwas komplizierteren Form getan haben, während FLIEG und PFAFF (1951) einen weniger empfindlichen Test mit *Sinapis alba* ausgearbeitet hatten[1]). Bei unserem Kressetest konnten wir einerseits die zeitraubende Vorkeimung von 48 Stunden Dauer, wie sie sich für den Erbsentest als notwendig erwies, vermeiden und andererseits die Entwicklungszeit der Testpflanzen im 2,4-D-Keimbett, die bei Erbsen vier bis fünf Tage betrug, herabsetzen. Versuche mit Kresse, vor allem, wenn die Samen zuvor gut sortiert worden waren, ergaben bei Vermeidung der angeführten Nachteile eine mindest ebenso große Empfindlichkeit wie die mit Erbsen, ihre Wurzeln reagierten sogar noch auf Verdünnungen von 2,4-D, die um eine Zehnerpotenz niedriger lagen als bei dem Erbsentest.

Die Kresse wird in abgestuften Verdünnungen der zu untersuchenden 2,4-D-haltigen Lösung zum Keimen gebracht und die Wurzellänge nach einer bestimmten Zeit mit den Wurzellängen verglichen, die in einer Verdünnungsreihe mit bekannten 2,4-D-Konzentrationen erreicht werden[2]). Letztgenannte Versuchsreihe, die „Testreihe", besteht aus fünf Lösungen von je 9 ccm, mit Konzentrationen von 0,0001 %, 0,0000562 %, 0,0000316 %, 0,0000177 % und 0,00001 %. Die Lösungen werden in je eine Falzdeckelschale von 9 cm Durchmesser und 5 cm Höhe gegeben, deren Boden mit einer Zellstofflage von fünf Schichten überdeckt ist. Auf diese werden 25 bis 30 Kressesamen ausgelegt, um am Ende des Versuches mindestens 20 gekeimte Samen zur Messung verfügbar zu haben. Ein Kartonstreifen zwischen Deckel und Schale ermöglicht den Luftaustausch. Die Verdunstung wird dabei in mäßigen Grenzen gehalten, so daß das Wachstum nicht beeinträchtigt ist und sich keine störenden Konzentrationsänderungen ergeben, sofern nach 48 Stunden die Verdunstungsverluste jeweils durch Zusatz von 1 ccm Aqua dest. ersetzt werden. Mit der zu untersuchenden 2,4-D-Lösung („Analysenreihe") ist entsprechend zu verfahren. Die Keimung erfolgt im Dunkeln bei 26 ° C.

Die Wurzellängen werden nach genau 72 Stunden abgemessen, worauf der Durchschnittswert für jede Verdünnung errechnet wird. Auch das Hypokotyl zeigt eine Wachstumshemmung, die aber nur rund 34 % der Hemmung der Wurzel beträgt.

Um nun feststellen zu können, wieviel 2,4-D in einer Lösung unbekannter Konzentration vorhanden ist, oder um den mikrobiologischen Abbau im Boden quantitativ verfolgen zu können, benutzten wir das früher (1952 a) von uns angegebene Verfahren in etwas abgeänderter Form. Zunächst sei zu diesem Zweck die graphische Darstellung der Testreihe beschrieben. In einem Koordinatensystem wurden auf der Ordinate die Logarithmen der

1) Sowohl *Sinapis alba* als auch *Raphanus sativus* (Rettich und Radies) erwiesen sich in unseren Versuchen in ihrer Reaktion gegen 2,4-D als unempfindlicher.

2) Wir benutzten stets das reine Natriumsalz der Säure.

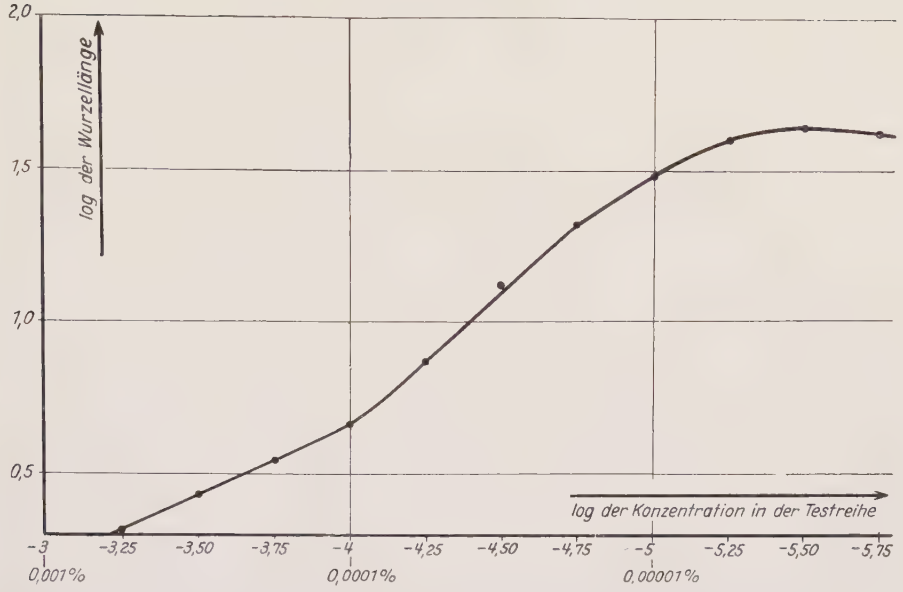


Abb. 1. Logarithmische Darstellung der Verdünnungsreihe einer bekannten 2,4-D-Lösung (Testreihe)

durchschnittlichen Wurzellängen und auf der Abszisse die Logarithmen der Konzentrationen aufgetragen (Abb. 1). Zwischen den Konzentrationsunterschieden einer Zehnerpotenz wurden drei Verdünnungen eingeschaltet, die so gewählt waren, daß der logarithmische Abstand auf der Abszisse jeweils 0,25 betrug. Verwertbare Meßergebnisse, d. h. also genügend große Wurzellängenunterschiede, finden sich bei einer derartigen Verdünnungsreihe einer 2,4-D-Lösung zwischen 0,001 % und 0,000001 %. Bei 0,001 % (log — 3) ist die Keimung gänzlich gehemmt. Bei 0,000562 % (log — 3,25) tritt schon geringes Wachstum ein, das bis zur Verdünnung von 0,0000017 % (log — 5,75) zunimmt, bei der die Wurzellängen mit denen einer Wasserkontrolle übereinstimmen. Zwischen den Verdünnungen 0,0001 % (log — 4) und 0,00001 % (log — 5) verläuft die Kurve annähernd linear und ist daher für quantitative Vergleiche besonders geeignet, weshalb wir diesen Bereich gewöhnlich für Abbauversuche benutzt haben.

Um meßbare Wurzellängen innerhalb des Testbereiches zu erhalten, muß man Lösungen, die eine höhere Konzentration als 0,0001 % besitzen, entsprechend verdünnen, beispielsweise eine 0,1 %ige Lösung — wie sie in der Praxis meist Verwendung findet — im Verhältnis 1 : 1000; hat kein Abbau stattgefunden, so besitzt also diese Ausgangslösung der Testreihe eine Konzentration von 0,0001 %. Ist aber eine Zersetzung eingetreten und sind Test- und Analysenreihe in gleicher Weise angesetzt, dann gibt der waagerechte Abstand der beiden durch die Meßpunkte gelegten Geraden den Logarithmus des Konzentrationsunterschiedes $\triangle$ log K an (Abb. 2). Die beiden Geraden verlaufen nicht parallel, da die Gerade der Analysenreihe sich um

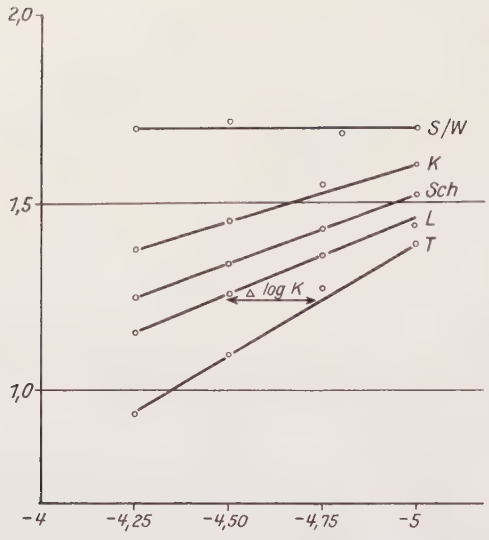


Abb. 2. Vergleich einer Testreihe T mit 2,4-D-Extrakten unbekannter Konzentration aus Lehmboden = L, Schlamm = Sch, Kompost = K, Sandboden = S sowie mit einer Wasserkontrolle = W. Der Abbau beträgt: T 0 %, L 44 %, Sch 66 %, K 71 %, S 100 % (errechnet aus △ log K)

so mehr der Waagerechten, die das graphische Bild der Wasserkontrolle darstellt, nähert, je mehr 2,4-D zerstört wurde. Für eine 2,4-D-Bestimmung muß man daher an mehreren Stellen den Abstand der Geraden messen und daraus das Mittel errechnen, wie das schon früher dargelegt wurde.

Wenn die Ausgangskonzentration der Testreihe mit K_1 und die der unbekannten Analysenlösung mit K_2 bezeichnet wird (vgl. Abb. 2), so gilt die Formel:

$$\log K_1 - \log K_2 = \triangle \log K;$$

in unserem Beispiel ist $\triangle \log K = 0{,}25$,

dann wäre:

$$\frac{K_1}{K_2} = \text{num} \triangle \log K = 1{,}78,$$

wenn $K_1 = 0{,}0001$ ist, so ist

$$K_2 = \frac{0{,}0001}{1{,}78} = 0{,}000056.$$

Die Konzentration der abgebauten Lösung beträgt also 0,000056 %, d. h., es sind rund 44 % zersetzt worden.

Es stellte sich bei unseren Versuchen heraus, daß 20 Samen pro Verdünnung genügen, um eine ausgeglichene Gerade zu erhalten. Man kann die Genauigkeit des Verfahrens jedoch erhöhen, wenn man mehr Samen pro Verdünnung auswertet.

Obwohl sich in unserem Institut der Kressewurzeltest nach MOEWUS (1949) zum Nachweis geringer Wuchsstoffmengen in wäßrigen Exkretionen von Bakterienkulturen bzw. Wurzeln höherer Pflanzen als viel zu unexakt und damit als unbrauchbar erwies, zeigte sich die Kresse für die quantitative Bestimmung von 2,4-D in Böden bzw. in Bodenlösungen, sofern der obengenannte Konzentrationsbereich innegehalten wird, als durchaus geeignet.

Gegenüber dem 2,4-D-Nachweisverfahren mit Erbsen (1. Mitteilung) besitzt unser neuer Nachweis mit Kresse folgende Vorteile:

1. Er erfordert mit drei Tagen bis zur Messung der Wurzellänge die Hälfte des Zeitaufwandes.
2. Der Arbeitsaufwand ist geringer, da man die Samen gleich in das 2,4-D-haltige Keimbett bringen kann, ohne daß eine Vorkeimung erforderlich ist.
3. Die Empfindlichkeit der Wurzeln gegen 2,4-D ist größer als die von Erbsen.

Erdproben wurden auf ihren 2,4-D-Gehalt untersucht, indem die Erde mit Wasser kräftig ausgeschüttelt[1]) und diese Lösung gleich zu einer Analysenreihe weiter verdünnt wurde. Wir haben so die umständliche Ätherextraktion gespart und die Kresse gleich in dem wäßrigen 2,4-D-Extrakt keimen lassen. Dieses Vorgehen ist in allen Fällen gerechtfertigt, wo dem Boden nur 2,4-D zugesetzt wurde. Wenn jedoch unbekannt ist, um welches Unkrautbekämpfungsmittel es sich gehandelt hat, wenn also dieses erst bestimmt werden soll, muß man eine Ätherextraktion vornehmen. Zur Frage der Spezifität dieses Nachweises sei auf unsere erste Veröffentlichung über 2,4-D verwiesen (Seite 371).

Auf die sich mit dem Abbau von 2,4-D im Boden befassende angelsächsische Literatur sind wir bereits früher eingegangen. Die Befunde der dort zitierten Autoren, nach denen der Wuchsstoff im Boden innerhalb weniger Wochen auf biologischem Wege abgebaut wird, ließen sich bestätigen. Die von uns fortgeführten Untersuchungen galten zunächst der Klärung einer für die landwirtschaftliche Praxis bedeutungsvollen Frage, ob Bottiche oder auch beliebige andere Gefäße, die meist aus Holz bestehen, wenn sie einmal zur Bereitung einer 2,4-D-Lösung benutzt worden waren, wieder völlig entgiftet werden können. Es hat sich nämlich gezeigt, daß derartige Gefäße selbst nach wiederholtem Ausspülen immer noch Restmengen von 2,4-D enthalten und damit für andere Zwecke unbrauchbar sind.

Um den natürlichen Bedingungen einer Zersetzung von 2,4-D, wie sie in gebrauchten Bottichen oder Tonnen vorliegen, möglichst nahe zu kommen, ohne jedoch mit großen und unhandlichen Gefäßen arbeiten zu müssen, wählten wir für unsere Versuche[2]) Glasröhren von 1 m Länge, entsprechend der Höhe eines großen hölzernen Bottichs, jedoch nur von 3 cm lichter Weite. Diese wurden mit einer bestimmten Menge angetrockneter, gemischter und auf 1 mm feingesiebter Erde beschickt und mit Wasser gefüllt. Die den Röhren zugesetzten 2,4-D-Gaben betrugen 20, 10, 5 und 2 mg, was Konzentrationen von 0,0033, 0,0016, 0,00083 und 0,00033 % entsprach. Obwohl diese nur Bruchteile der bei der Unkrautbekämpfung angewandten Dosis von 0,1 % darstellen, zeigen sie doch noch eine starke Wirkung auf dikotyle Pflanzen. Sie sind gerechtfertigt, wenn man bedenkt, daß in der Praxis Gefäße, die 2,4-D enthielten, zunächst einmal gründlich ausgespült werden, wodurch das durch Diffusion in die Holzwände eingedrungene 2,4-D oder sonstige, in toten Winkeln verbliebene Spuren der Stammlösung kaum noch eine höhere Konzentration ergeben dürften.

Da nicht feststand, ob der 2,4-D-Abbau unter streng aeroben oder auch unter anaeroben Bedingungen vor sich geht, wurden zunächst orientierende Versuche in dieser Richtung angestellt. Jeweils gleiche Mengen Erde (70 g)

[1]) In der 1. Mitteilung findet sich auf S. 370, letzter Absatz, für die aus einer Bodenprobe ausziehbare 2,4-D-Menge eine Formel, die richtig heißen muß:

$$\frac{100 \cdot 800}{(1000 + B)} \ \%$$

[2]) Herr Dr. Freter hat zu Beginn dieser Versuche noch mitgearbeitet, wofür ihm an dieser Stelle gedankt sei.

und Wasser (700 ccm) wurden einmal nach Zusatz von 20 mg 2,4-D (0,003 %) in Fernbachkolben gegeben, die jeden Tag gründlich geschüttelt wurden, um Sauerstoffmangel zu verhüten, zum anderen in die hohen Röhren eingefüllt, die nicht geschüttelt wurden. In weitere Fernbachkolben wurden unterschiedliche Mengen angefeuchteter Erde gebracht, die durch fortgesetzte 2,4-D-Gaben mit mikrobiellen 2,4-D-Zersetzern angereichert worden war[1]). Über die Ergebnisse orientiert Tabelle 1. Daraus ist ersichtlich, daß bei guter Lüftung der Abbau schneller vor sich geht als unter anaeroben Verhältnissen, und daß er am schnellsten erfolgt bei Benutzung von angereicherter Erde.

Tabelle 1

25. Jan. bis 3. Febr. 1952	nach fünf Tagen	nach zehn Tagen
Fernbachkolben geschüttelt	nicht abgebaut	vollständig abgebaut
Röhre, nicht geschüttelt	nicht abgebaut	45 % abgebaut
angereicherte Erde	vollständig abgebaut	—

Zu einem ähnlichen Resultat führte ein Röhrenversuch vom 5. bis 21. Februar 1952, der in Tabelle 2 dargestellt ist. Er läßt erkennen, daß alle Röhren nach sechs Tagen noch unzersetzte 2,4-D enthalten, daß aber nach neun Tagen in den Röhren mit 2 bzw. 5 mg 2,4-D der Abbau ein vollständiger ist und nach dreizehn Tagen auch die höheren Mengen von 10 bzw. 20 mg in den offenen und geschüttelten Röhren[2]) restlos zersetzt sind, dieses Stadium aber in der verschlossenen Röhre, d. h. also unter streng anaeroben Bedingungen bei Zusatz von 10 mg 2,4-D erst nach 16 Tagen erreicht ist.

Beim 2,4-D-Abbau dürften also aerobe Prozesse im Vordergrund stehen, was auch mit den Befunden von AUDUS (1949/50) übereinstimmt, der mit gut belüfteten Lösungen arbeitete. AUDUS (1949) prüfte auch den O_2-Verbrauch beim Abbau verschiedener Mengen 2,4-D und stellte fest, daß dieser ungefähr gleichbleibt. Daher vermutet er, daß zunächst keine oxydative, sondern eine hydrolytische Spaltung der wirksamen Verbindung vorliegt. Der Sauerstoffbedarf wird also auf die Atmung der 2,4-D-zersetzenden Bakterien zurückzuführen sein.

Um den zeitlichen Verlauf des 2,4-D-Abbaues quantitativ zu verfolgen, wurden den Röhren bei einem weiteren Versuch in genau der gleichen An-

[1]) Zu dem Zweck wurde eine Komposterde von 1 kg Frischgewicht mit 10 ccm einer 0,1 %igen 2,4-D-Lösung gut durchmischt und bei 26° C in einem Fernbachkolben aufbewahrt. Nach 14 Tagen war mit dem Kressetest keine 2,4-D mehr nachzuweisen. Es wurde die Erde dann wiederum mit einer 0,1 %igen 2,4-D-Lösung befeuchtet und diese Behandlung noch mehrmals wiederholt, wobei die Abbauzeiten auf drei bis fünf Tage sanken. Schließlich wurden 100 bis 200 mg innerhalb von acht Tagen zersetzt.

[2]) Um eine vollständige Durchmischung und Durchlüftung zu erreichen, was beim Schütteln der Röhren selbst nicht gewährleistet gewesen wäre, wurde ihr Inhalt dazu jedesmal vorübergehend in einen 1-Liter-Kolben umgefüllt. Der sprachlichen Einfachheit halber wird im Text stets von „geschüttelten Röhren" gesprochen.

Tabelle 2
100 g Erde / 700 ccm H_2O, Versuch vom 5. bis 21. Februar 1952

2,4-D-Menge	6 Tage	9 Tage	13 Tage	16 Tage
2 mg Röhre offen	zur Hälfte abgebaut	vollständig abgebaut	—	—
5 mg Röhre offen	zur Hälfte abgebaut	vollständig abgebaut	—	—
10 mg Röhre offen	wenig abgebaut	noch nicht zur Hälfte abgebaut	vollständig abgebaut	—
10 mg Röhre verschlossen	wenig abgebaut	noch nicht zur Hälfte abgebaut	noch nicht vollständig abgebaut	vollständig abgebaut
20 mg Röhre offen	wenig abgebaut	noch nicht zur Hälfte abgebaut	vollständig abgebaut	—

ordnung jeden Tag Proben entnommen und auf ihren 2,4-D-Gehalt geprüft. Dabei bestätigte sich wiederum, daß bei der biologischen Zersetzung von 2,4-D im allgemeinen drei Phasen unterschieden werden können, auf die erstmals AUDUS (1949/50) aufmerksam gemacht hat und die auch von uns schon früher festgestellt worden waren:

1. Die geringe Anfangsadsorption durch den Boden.
2. Eine relativ lang andauernde Zeitspanne der Stagnation, in der kein oder nur ein geringer Abbau erfolgt.
3. Die Endphase mit einem schnellen Verschwinden des Wuchsstoffes.

Die Anfangsadsorption beträgt nach unseren früheren Versuchen, die im Ergebnis mit denen von WARSHOWSKY und SCHANTZ (1950) gut übereinstimmen, rund 0,1 mg pro kg lufttrockenen Bodens. Wahrscheinlich wird 2,4-D dabei durch Adsorption an Bodenkolloide gebunden. AUDUS (1951) gibt die Adsorptionsmenge mit 0,157 ± 0,035 mg pro Gramm getrockneten Bodens an, ein Wert, der hier 1000mal so groß wie der unsrige und der von WARSHOWSKY ist und nur dadurch erklärt werden kann, daß AUDUS den Boden wahrscheinlich ungenügend extrahiert hat (vgl. hierzu seine Tabelle I, in der er stark divergierende Werte für die Adsorptionsmenge angibt).

Gemäß Abb. 3, in der die Anfangsadsorption nicht in Erscheinung tritt, verändert sich der 2,4-D-Gehalt bis zum fünften Tage nicht. Vom fünften zum sechsten Tag verschwindet eine geringe Menge Wuchsstoff, und damit ist die dritte Phase des endgültigen schnellen Abbaues erreicht. Dieser zeigt sich graphisch in Form einer Exponentialkurve, wie sie für die Bakterienvermehrung in einer Reinkultur charakteristisch ist, was als weiterer Beweis für die mikrobielle Zersetzung des Wuchsstoffes gewertet werden kann.

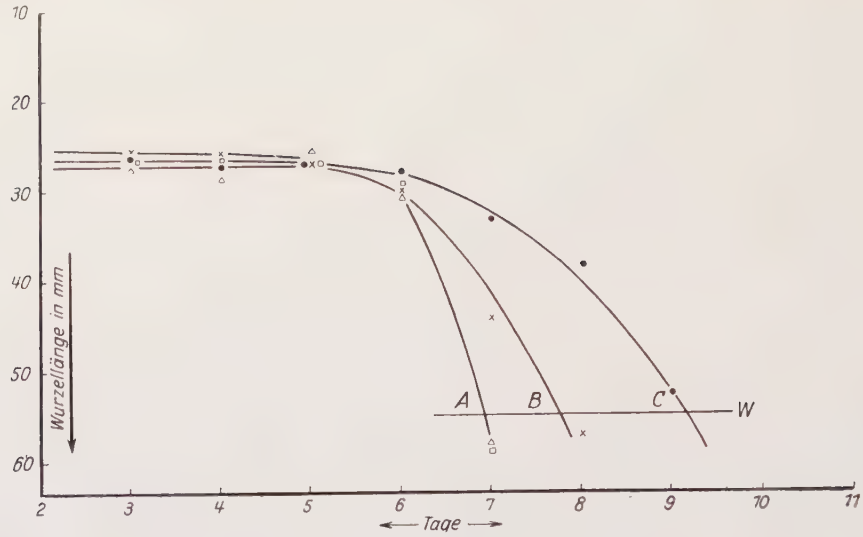


Abb. 3. Zeitlicher Verlauf des Abbaues von A) 2 und 5 mg, B) 10 mg und C) 20 mg 2,4-D in Röhren mit 100 g Erde + 700 ccm Wasser. Als Maß für den Abbau ist auf der Ordinate die Wurzellänge aufgetragen. Die Linie W gibt die Wurzellänge der Wasserkontrolle an

2,4-D wird demnach vom sechsten Tage an in den Röhren mit 2 und 5 mg innerhalb von 24 Stunden, in der Röhre mit 10 mg in zwei Tagen und in der mit 20 mg in drei Tagen vollständig abgebaut. Es mag noch erwähnt werden, daß wäßrige Lösungen aus den Röhren, in denen der Wuchsstoff vollständig zersetzt war, häufig eine fördernde Wirkung auf das Wachstum der Kressewurzeln zeigen. Solche Stimulationswirkungen wurden bereits mehrfach beobachtet, zuletzt von AUDUS (1949).

Maßgeblich für die Schnelligkeit des 2,4-D-Abbaues ist also nach den bisherigen Befunden:

1. die 2,4-D-Menge,
2. die Versorgung mit Sauerstoff und
3. die Anzahl der 2,4-D-zersetzenden Mikroben.

Wir erwähnten schon, daß mit 2,4-D-Zersetzern angereicherte Erde viel wirksamer ist als normaler Boden. Zu den beschriebenen Versuchen hatten wir eine sehr wirksame Komposterde (pH 7,4) benutzt. Um nun zu erfahren, wie sich verschiedene Bodenarten hinsichtlich des Abbaues in Röhren verhielten, wurden vom 7. bis 27. März Versuche mit einer anderen Komposterde (pH 6,5), mit Ackerboden (pH 6,0), Sandboden (pH 6,2), Gartenerde (pH 6,8) und Lehmboden (pH 6,9) — alle vom Versuchsgelände der Biologischen Bundesanstalt stammend — angestellt. Die Röhren wurden mit 100 g Boden und 5 mg (0,00083 %) 2,4-D versehen, offen stehengelassen und ihr Inhalt täglich gut durchgeschüttelt. Wie aus der graphischen Darstellung Abb. 4 I zu entnehmen ist, war bei Verwendung von Sandböden nach acht Tagen der Wuchsstoff vollständig zersetzt. Ihm folgt in der Wirksamkeit

nach 13 Tagen die Ackererde und erst nach 19 Tagen der Kompost. Gartenerde enthält nach dieser Zeit noch immer 16 % und Lehm sogar noch 60 % des unzersetzten Wuchsstoffes.

Dieses Ergebnis ist vom mikrobiologischen Standpunkt aus betrachtet eigentlich überraschend, denn im allgemeinen sind Kompost- und Gartenerden doch viel mikrobenreicher und damit aktiver als Sandböden.

Vielleicht ist aber der Grund für das auffallende Verhalten der Mikroben des mageren Sandbodens darin zu suchen, daß sich diese Mikrobenflora allmählich an dürftigere Ernährungsverhältnisse hat anpassen müssen und wegen besserer Ausnutzung sonst schwer zersetzbarer zyklischer Verbindungen Bakterienarten, die letztere Stoffe angreifen, in größerer Zahl oder auch nur von größerer Aktivität enthalten als nährstoffreichere Böden.

Vom 16. bis 30. April wurde dieser Versuch wiederholt, mit dem einzigen Unterschied, daß die schlecht abbauende Gartenerde durch einen schwarzen, schwefelwasserstoffhaltigen Schlamm (pH 7) aus einem Abwassergraben ersetzt wurde. Die dargebotene 2,4 - D - Menge betrug hier 10 mg/600 ccm Wasser (0,00166 %). Das Ergebnis ist aus Abb. 4 II ersichtlich. Sand- und Ackerboden hatten den Wuchsstoff diesmal gleichzeitig abgebaut, Kompost nach 18 Tagen, während Schlamm und Lehm nach dieser Zeit erst 80 bzw. 60 % 2,4-D zersetzt hatten. Gegenüber dem in Abb. 4 I dargestellten Versuch ist also trotz der höheren 2,4-D-Gabe allgemein ein schnellerer Abbau erfolgt, der besonders beim Ackerboden mit einer Differenz von fünf Tagen deutlich hervortritt.

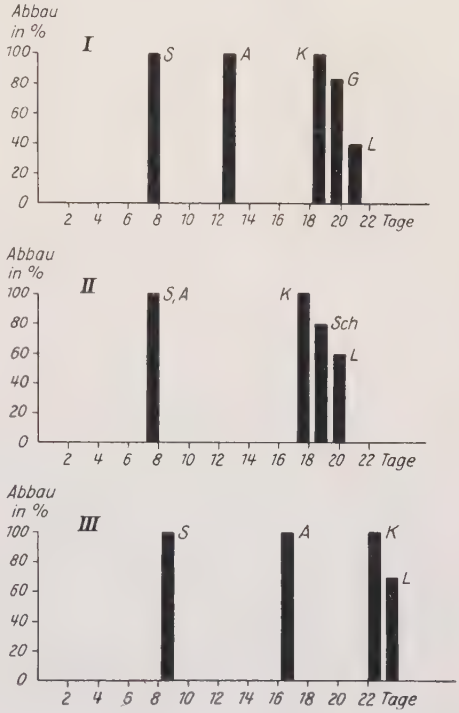


Abb. 4. I—III. Abbauversuche mit verschiedenen Böden. Auf der Waagerechten ist die Zahl der Tage aufgetragen, in denen der prozentuale Abbau der 2,4-D- (Senkrechte) vor sich gegangen ist. I: S = Sandboden, A = Ackerboden, K = Kompost, G = Gartenerde, L = Lehmboden. II: Sch = Schlamm, Bezeichnung sonst wie in I. III: Bezeichnung wie in I

Daß dem pH-Wert keine entscheidende Rolle bei der Aktivität der 2,4-D-Zersetzer in den Bodenproben zukommt, konnte in einem weiteren gleichartigen Versuch vom 19. Mai bis 6. Juni gezeigt werden (Abb. 4, III). Der pH-Wert betrug diesmal bei der Röhre mit Komposterde 7,2, bei Ackererde 7,4 und beim Sandboden 7,0. Wieder hat der Sandboden mit neun

Tagen am schnellsten 2,4-D zersetzt. Es folgen Ackererde, Kompost und Lehm, diesmal aber gegenüber den vorigen Versuchen mit einigen Tagen Verzögerung.

Erwähnt sei noch ein Abbauversuch, der mit der in der Praxis angewandten Dosis von 0,1 % 2,4-D zwischen dem 16. Juni und 14. Juli 1952 lief. Sandiger, schwach humoser Boden hatte nach einem Monat bei der üblichen Versuchsanordnung 20 % der 2,4-D-Gabe zerstört, während ein angereicherter Kompost 39 % abgebaut hatte. Bei höheren Konzentrationen braucht aber der Abbau nicht nur eine absolut längere Zeit, er geht auch kontinuierlicher vor sich als bei niederen Konzentrationen, insofern, als sich die eigentliche Abbauphase über eine größere Zahl von Tagen erstreckt.

Zusammenfassend ergibt sich, daß verschiedenen Bodenproben eine außerordentlich unterschiedliche Zersetzungskraft gegenüber 2,4-D zukommt. Am wirksamsten im Abbau verhielt sich stets ein mit 2,4-D-Zersetzern angereicherter Boden, der maximal 20 mg/700 ccm Wasser und 100 g Boden in fünf Tagen abbaute. Von unbehandelten Böden vermochte lehmiger Sand innerhalb von acht Tagen 10 mg/600 ccm Wasser zu zersetzen, während in dem am schlechtesten abbauenden Lehm nach drei Wochen noch nicht aller Wuchsstoff beseitigt war. Weiter ist zu vermerken, daß ein und dieselbe Bodenprobe zu verschiedenen Zeiten bei gleicher Versuchsanstellung unterschiedlich reagiert und um mehrere Tage schwankende Abbauzeiten ergeben kann.

Vergleichen wir diese Befunde mit denen, die bei der Zersetzung von 2,4-D in festen Böden erhalten wurden, so fällt auf, daß dort nicht nur die zum Abbau benötigten Zeitspannen, sondern auch die zeitlichen Schwankungen größer sind (vgl. hierzu die Literaturbesprechung und eigene Versuche bei STAPP und FRETER 1952 a, S. 372). Das geht außerdem auch aus den Versuchsergebnissen von FLIEG und PFAFF (1951) hervor, die für eine Zersetzung von 10 mg 2,4-D/kg Boden einen Zeitraum zwischen acht und fünfzehn Wochen je nach Bodenart angeben. Annähernd vergleichen lassen sich mit unseren Versuchen nur die von AUDUS (1951), der — wie erwähnt — ebenfalls mit wäßrigen Lösungen arbeitete. Er erhielt allerdings im Durchschnitt kürzere Zersetzungszeiten, was wohl auf seine Technik zurückzuführen sein dürfte; denn er arbeitete mit einer ständig zirkulierenden und stark durchlüfteten Flüssigkeit, während wir die Röhren täglich nur einmal kräftig schüttelten. Dagegen sind jedoch bei ihm die Schwankungen der Zersetzungszeiten erheblich größer als bei uns. Es läßt sich bei AUDUS beispielsweise aus Fig. 3 Abb. A entnehmen, daß 18 mg/l nach 21 Tagen, 90 mg/l dagegen schon nach neun Tagen und 100 mg/l erst nach über 30 Tagen zersetzt sind. Bei 100 mg/l schwankte in einem Versuch die Abbauzeit zwischen 15 und 30 Tagen. AUDUS erklärt diese Schwankungen der Bakterienanreicherung und damit der Zersetzungsintensität bei ein und demselben Boden mit der den Erdproben innewohnenden Heterogenität (inherent heterogeneity). Uns scheint bei Verwendung ein und derselben Bodenprobe weniger eine innere Heterogenität als vielmehr ein durch geringfügige Änderung äußerer Faktoren bedingter unterschiedlicher Ablauf der spezifischen Bakterienver-

mehrung vorzuliegen, wenn gewisse Zufälligkeiten dabei außer Betracht gelassen werden sollen.

Kehren wir nun zu der rein praktischen Ausgangsfrage nach der Zersetzung niedriger 2,4-D-Konzentrationen in Gefäßen zurück. Unter Zugrundelegung der Verhältnisse bei den Röhrenversuchen würde auf 10 l Flüssigkeit 1 kg feuchten Bodens genügen, um einen 2,4-D-Abbau herbeizuführen. Vorteilhaft ist es jedoch, eine größere Menge Bodens zuzusetzen, da der Abbau hierdurch nur gefördert werden kann. Allerdings ist die Wirksamkeit des Bodens von ausschlaggebender Bedeutung. Steht ein schon einmal mit 2,4-D behandelter sandiger Ackerboden zur Verfügung, so wird man diesen wählen, da anzunehmen ist, daß hier schon eine gewisse Anreicherung der mikrobiellen Zersetzer stattgefunden hat. Andernfalls sind natürlich auch humusreichere Böden zu verwenden. Nur Lehmböden sind — wie ausgeführt — wenig geeignet und daher auszuschließen. Je nach Konzentration der 2,4-D-Lösung und Wirksamkeit des Bodens wird man das Gefäß 14 Tage bis drei Wochen möglichst bei Temperaturen über 20 ° C stehenlassen. Flüssigkeit und Erde, mit denen, im richtigen Verhältnis zueinander, die Bottiche natürlich möglichst weit angefüllt sein müssen, sind zum Zwecke guter Durchlüftung und Durchmischung täglich umzurühren. Selbst bei einem sehr schlecht 2,4-D-abbauenden Boden kann man nach drei Wochen mit der restlosen Zersetzung rechnen, sofern die Konzentration weniger als 0,003 % betrug.

Die der 2,4-D-Lösung zugesetzte Erde ist nach Ablauf dieser Zeit mit mikrobiellen Zersetzern angereichert. Sie kann daher, falls noch weitere Gefäße zu entgiften sind, diesen zugesetzt werden.

Es sei noch ein einfacher qualitativer Test angeführt, der es erlaubt, festzustellen, ob in einem Boden noch 2,4-D enthalten ist. Man bringt die mit 2,4-D behandelte Erde und zum Vergleich unbehandelte Erde derselben Probe in zwei Schalen und sät Kresse darin aus. Nach drei Tagen vergleicht man die Sproßlängen in beiden Schalen und kann an einer eventuellen Hemmung auch ohne Messung leicht erkennen, ob noch Wuchsstoff vorhanden ist.

Zusammenfassung

1. Der Einfluß von 2,4-D auf das Längenwachstum der Primärwurzeln von Kresse *(Lepidium sativum)* wird als Grundlage für eine neue quantitative Nachweismethode benutzt.
2. Abbauversuche in Röhren, die als Modell für größere Gefäße dienten, zeigten die unterschiedliche Zersetzungskraft verschiedener Böden gegenüber 2,4-D.
3. 2,4-D wird in Konzentrationen unter 0,003 % in wäßriger Lösung bei 20 ° C nach Zusatz von 1/10 Gewichtsteil Erde in spätestens drei Wochen zersetzt.
4. Auf Grund dieser Ergebnisse wird ein Verfahren zur mikrobiellen Entgiftung von Bottichen empfohlen.

Literaturverzeichnis

Audus, L. J., 1949: Detoxication of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soil. Plant and Soil **2**, 31—36.

— —, 1951: The biological detoxication of hormone herbicides in soil. Plant and Soil **3**, 170—192.

— — and Quastel, J. H., 1947: Coumarin as a selective phytocidal agent. Nature **159**, 320—324.

Flieg, O. und Pfaff, C., 1951: Über Wanderung und Abbau der 2,4-D im Boden sowie ihren Einfluß auf mikrobiologische Umsetzungen. Landw. Forsch. **3**, 113—123.

Moewus, F., 1949: Der Kressewurzeltest, ein quantitativer Wuchsstofftest. Biol. Zentralbl. **68**, 118—138.

Stapp, C. und Freter R., 1952 a: Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. I. Mittlg.: Eine verbesserte Nachweismethode und orientierende Versuche über die Haltbarkeitsdauer des Wuchsstoffes im Boden. Phytopath. Zeitschr. **18**, 365—375.

— —, — —, 1952 b: Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. II. Mittlg.: Die Reaktion von Bodenbakterien auf den Wuchsstoff. Phytopath. Zeitschr. **19**, 20—33.

Warshowsky, B. and Schantz, E. D., 1950: Determination of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Soil. Anal. Chem. **22**, 460—463.

Besprechungen

Sorauer, P., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Bd. VI: Pflanzenschutz. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 2. Aufl. 1952, 1. Lfg., 464 S., 3 Textabb. Ganzleinen geb. 78,— DM.

Unter der unermüdlichen Leitung O. Appels erscheint der 6. Band des „Sorauer" nach 13 Jahren in neuer Auflage. Die Ausweitung des Stoffes und vor allem die ungeheure Papierpreiserhöhung haben den Herausgeber veranlaßt, den ersten Halbband in zwei in sich abgeschlossene Lieferungen zu unterteilen, von denen die erste nunmehr vorliegt. Sie umfaßt die Abschnitte „Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes" und „Hygiene". „Die Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten und Schädlinge" ist der zweiten Lieferung vorbehalten.

„Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes" ist wieder von Morstatt bearbeitet worden. Bei gleichgebliebenem Gesamtumfang sind doch manche Änderungen zu verzeichnen. Durch Streichungen wie auch durch die Einarbeitung neuerer Erkenntnisse hat der Abschnitt gewonnen.

Der Abschnitt „Hygiene" umfaßt auch in der Neuauflage die gleichen Aufgabengebiete wie in der früheren Bearbeitung. So sind die Entseuchungsmaßnahmen wiederum der Hygiene zugerechnet, obwohl sie s. str. nach Ansicht mancher Autoren wie auch des Referenten hier nicht hingehören. Es ist allerdings den Ausführungen Brauns beizupflichten, der wieder die einleitenden Worte zu diesem großen Abschnitt schrieb, daß die strenge Definition der Begriffe Hygiene, Prophylaxe, Therapie usw. in der Phytopathologie vielfach auf Schwierigkeiten stößt, und daß die Umgrenzung Auffassungssache ist.

Wie in der ersten Auflage hat Braun die Hygiene im engeren Sinne bearbeitet, die Kulturmaßnahmen und, als letztes Kapitel, die Quarantäne. Beide Kapitel sind nur unwesentlich abgeändert. Bei der Besprechung der Kulturmaßnahmen haben vor allem mehrfach neue Ergebnisse der forstpathologischen und der Virus-Forschung Aufnahme gefunden.

Dagegen sind die „Entseuchungsmaßnahmen" von Grund auf durch die neuen Bearbeiter umgeändert worden. Fuchs hat in der Neuauflage die „Bodenentseuchung" übernommen. Der Umfang dieses Abschnitts ist auf weit über das Doppelte angewachsen, da Fuchs außer der älteren Literatur die im letzten Dezennium erschienenen, außerordentlich zahlreichen Veröffentlichungen aus diesem Sektor erschöpfend berücksichtigt hat. Um neben der ungeheuren Menge der zitierten Literatur den Raum für den Text nicht noch mehr im Satzbild zu beschneiden, hat sich der Verfasser zu einer weitgehenden Abkürzung der Arbeitstitel veranlaßt gesehen, die das Verständnis des Literaturteils teilweise recht erschwert. Unter den vom Verfasser eingeführten Neuerungen sind u. a. die allgemeinen Ausführungen und die Gepflogenheit zu begrüßen, im speziellen Teile hinsichtlich der fungiziden bzw. insektiziden Wirkung der einzelnen Mittel eine systematische Aufgliederung vorzunehmen. Nicht zuletzt hierdurch ist die neue Darstellung des wichtigen Gebietes trotz des überreichlichen Literaturangebots sehr übersichtlich geworden. Man wird erschreckend gewahr, daß an der Entwicklung dieses Teilgebietes des Pflanzenschutzes deutsche Forscher relativ wenig Anteil haben.

Das Kapitel „Beizung und Entseuchung von Pflanz- und Saatgut" ist gleichfalls völlig neu aus der berufenen Feder Gassners hervorgegangen und weist eine straffere Gliederung auf. Neue Erkenntnisse in der Verbesserungsmöglichkeit der älteren Beizverfahren, insbesondere physikalischer Beizmethoden, sind gebührend berücksichtigt worden.

Erfreulich ist, daß abweichend von der ersten Auflage bereits die vorliegende erste Lieferung mit einem Index abschließt. Einige Lücken in diesem Sachverzeichnis wie auch einige Schönheitsfehler in der Bezifferung der Kapitelüberschriften im Inhaltsverzeichnis fallen nicht sonderlich ins Gewicht und lassen sich bei einer künftigen Neuauflage leicht beheben.

Die erste Lieferung der Neuauflage von Band VI des „Sorauer" legt im alten Gewande, aber mit teilweise weitgehend abgeändertem Inhalt Zeugnis von dem erfolgreichen Bemühen des Herausgebers ab, den Anschluß an den gegenwärtigen Stand der Forschung zu wahren. Sie wird dazu beitragen, den hohen Ruf dieses deutschen Standardwerks im internationalen Schrifttum zu festigen.

Hassebrauk, Braunschweig

Kotte, W., Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung. 2. Aufl. Verlag Paul Parey, Berlin u. Hamburg, 1952. 280 S. mit 186 Textabbildungen u. 8 farbigen Tafeln. Ganzleinen DM 27,—.

Die erste Auflage des Buches von Kotte war 1943 erschienen und hat großen Anklang gefunden. Die neue Auflage wird sich der gleichen Beliebtheit erfreuen. Sie berücksichtigt in vollem Umfange die in der Zwischenzeit gewonnenen neuen Erkenntnisse einschließlich der in den letzten Jahren geschaffenen neuen Bekämpfungsmittel und bringt weiter auch die bei der ersten Auflage nicht zugänglichen ausländischen Erfahrungen.

Das Buch gliedert sich in fünf Hauptabschnitte, von denen die beiden ersten die wirtschaftliche Bedeutung der Pflanzenkrankheiten im Gemüsebau und die Ursachen der Schäden an den Gemüsepflanzen behandeln. Der dritte Teil ist der umfangreichste; er gibt eine Beschreibung der auf den einzelnen Gemüsearten vorkommenden verschiedenen Krankheiten und Schädlinge. Der vierte Abschnitt behandelt die Schädlingsbekämpfung. Hier sind für den Phytopathologen in erster Linie die Abschnitte Bodenentseuchung, Saatgutbeizung und Saatgutbehandlung, Spritzen und Stäuben und der Jahreskalender für den Pflanzenschutz im Gemüsebau von Interesse.

Die Darstellung des Stoffes ist klar und in jeder Weise zweckentsprechend. Man sieht in jedem einzelnen Abschnitt, daß der Verfasser auch die wissenschaftlichen Grundlagen des behandelten Gebietes voll und ganz beherrscht. Das vom Verlag Parey hervorragend ausgestattete Werk enthält außer 186 Textabbildungen noch 8 ebenfalls sehr gut herausgekommene Farbtafeln. Das Buch kann in jeder Weise empfohlen werden.

Gassner, Braunschweig

The Department of Plant Pathology of the Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen

Botryotinia (Sclerotinia) globosa sp. n. on *Allium ursinum*, the Perfect Stage of *Botrytis globosa* Raabe

By

N. F. Buchwald

Contribution No. 37

With 11 figures

I. Introduction

An attack of *Botrytis* on the leaves of *Allium ursinum* was first observed in 1879 by J. Schröter in Baden, Germany. The attack is described as follows (1879, p. 182):

„Sobald die Blüthezeit vorüber ist, siedelt sich auf einzelnen Blättern *Botrytis* an, und erstreckt sich bald über alle Blätter der weit verbreiteten Colonien. Anfangs sind nur die Spitzen ergriffen, schnell dehnt sich der Schimmel in dichten Rasen über das ganze Blatt aus und in wenigen Tagen sind die Blätter auf weiten Strecken abgestorben und vermodert."

Already a couple of years later (1882) E. Rostrup found the fungus in Denmark on the same host plant, partly on the 6th of May in the garden of Skaarup Training College, Fyn, partly on the 15th of May in Bregninge Forest in Taasinge[1]). Of the attack in the garden of the Training College Rostrup writes as follows in his „Mycological Journals" on the 6th of May 1882 (translated):

„*Botrytis (Polyactis) vulgaris* Fr. f. *Allii ursin.* in quantity on leaves still green; they were always attacked towards the apex where they became twisted and creased, usually bent back, and the whole lower side of the infested areas covered by the whitish grey mould."

In 1896 A. Frank states that he has found the fungus around Leipzig (Frank 1896, p. 505).

Without being acquainted either with Schröter's or with Rostrup's above-mentioned observations the present writer, on a botanical excursion to Bogenaes Forest, Sealand, on the 9th of May 1933, observed a striking attack

[1]) Herbarium material from Bregninge Forest is still kept at the Botanical Museum, Copenhagen, sub nom. *Polyactis vulgaris.*

of *Botrytis*, which occurred in great abundance in the wide-spread growths of *Allium ursinum* so characteristic of this beech wood. The attack on the leaves was easily recognisable at a distance by the water-soaked area around the infected place, and with a lense you could as a rule distinguish a very low, (ca. 0,5 mm) light grey coating of mould of the conidiophores of the fungus, especially at the edge of the water-soaked spots (cp. also E. HELLMERS 1943). A microscopic examination of the collected material showed, to my surprise, that the conidia did not resemble those of *Botrytis cinerea* or any other *Botrytis* species known to the author. They proved to be subglobose and large-sized, 15—18 μ in diameter. On infested leaves placed in a moist chamber there developed, some days later, first greenish brown, subsequently black sclerotia. There could be no doubt that it was a *Botrytis* species, but presumably a new species, not previously recorded.

A few years later a paper by the German botanist A. RAABE (1938) came under the author's notice. In it he quite briefly describes the fungus as a new species by the characteristic name of *Botrytis globosa*. My interest in the fungus was now revived, ROSTRUP's old material was more closely examined, and the species was found to be present in several new Danish localities. In 1943 E. HELLMERS of the Plant Pathological Department of the Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen, in his treatise on the Danish *Botrytis* species on *Allium*, gave a detailed description (accompanied by figures) of the morphology of the fungus and its cultural conditions, as well as of the attack on *Allium ursinum* (HELLMERS 1943) (fig. 1). From these investigations it appeared plainly that *Botrytis globosa* is a separate species, which both morphologically and biologically differs distinctly from the *Botrytis* species occurring on the cultivated *Allium* species, e. g. *A. cepa* and *A. ascalonicum*, namely *Botrytis allii*, *B. squamosa*, and *B. byssoidea*, just as it is well separated from the conidial stage (*Botrytis sphaerosperma* Buchwald) of the *Sclerotinia sphaerosperma* (*Botryotinia s.* [Gregory] Buchw.) described by P. H. GREGORY (1941) from *Allium triquetrum*. The present writer, therefore, proposed in 1949 that *Botrytis globosa* should be referred (with three other *Botrytis* species) to the subgenus *Sphaerobotrytis*, which is primarily characterised by having glo-

Fig. 1. Leaf of *Allium ursinum*, infested with *Botrytis globosa*. Bogenaes beech forest 18. 6. 1941.
Photo E. Hellmers

bular, smooth, large to very large conidia, as a rule germinating by several germ tubes (Buchwald 1949).

Up to that time *Botrytis globosa,* as far as the author knows, had only been recorded from Germany and Denmark, but in 1951 it was also reported from England by Webster & Jarvis, who found it in several localities and stated that „although the fungus is common, it has apparently not been previously recorded in this country". Their description and figures of the conidiophores, conidia, and sclerotia agrees perfectly with the description by E. Hellmers, with whose treatise of 1943 they, however, do not seem to be acquainted. Of special interest is their demonstration that the conidia germinate rapidly, producing one to four germ tubes.

II. Demonstration of the Apothecial Stage

For the last ten years the author has often made small investigations on *Botrytis globosa,* in the first place in order to trace the apothecial stage. Once or twice, at the close of April and the beginning of May, I have thus visited the classical locality, Bogenaes beech forest, and closely examined infested growths of *Allium ursinum* for the purpose of finding the apothecia of the fungus which must be supposed to develop from the sclerotia surviving the winter, but in spite of strenuous search I have not so far succeeded in finding either apothecia or surviving sclerotia.

After these unsuccessful attempts I determined to make some cultivation experiments so as to find the apothecia in this way, if possible.

A. The Development of Apothecia from naturally produced Sclerotia

1. Cultivation Experiments with Sclerotia (1943—44)

Infested leaves collected by E. Hellmers on the 3th of June 1943 in the extensive growths of *Allium ursinum* in Risskov near Aarhus (Jutland) were placed in a moist chamber the next day. After some days sclerotia began to develop and by the middle of June the formation of sclerotia was in full progress. The sclerotia were elongated where they developed along the ribs of the leaves, while the sclerotia formed interveinally were oval to roundish. At the end of June, after about three weeks, the production of sclerotia ceased entirely. The leaves were now put to dry, and on the 9th of August 1943 small pieces of leaf, each with one sclerotium, were placed on moist sand in four glass dishes with covers (10 cm in diameter), ten clerotia in each dish. Two dishes were placed in the garden of the Agricultural College, one dish in a thermostat at 10 to 12 ° C, and one dish at room temperature (18 to 20 ° C).

At the beginning of March 1944 all four dishes were placed in the „winter garden" in the Department of Plant Pathology. On the 24th of March of the same year two small primordial apothecia were observed on two of the sclerotia in one of the two dishes which had wintered in the garden, one on each sclerotium. On the 24th of April both primordia had developed into di-

stinct apothecia which were pale brown, with a stalk 3 to 4 mm long and a fruit disc 1 to 2 mm in diameter. The ascospores measured 14 to 22,5 × 6 to 9 μ (ten spores measured) (fig. 6). Unfortunately the apothecia rotted before it was possible to have them photographed, and before pure cultures of them could be instituted. On the other hand, *Botrytis* coatings were not observed on any of the sclerotia: incidentally, most of the sclerotia had by now decayed, amongst others all those that had been placed in the thermostat and at room temperature.

After this little experiment there was, however, no reason to doubt that *Botrytis globosa* possesses an apothecial stage, and that the species must be referred to *Botryotinia*, but nevertheless the author decided to make another culture experiment in order to verify the results.

2. Culture Experiments with Sclerotia (1948—49)

The procedure was the same as that mentioned under the first culture experiment. Infected leaves collected on the 8th of June 1948 in Bogenaes beech forest the same day were placed into a moist chamber. The formation of sclerotia commenced shortly afterwards, was in full progress on the 14th of June, and ceased entirely on the 29th of June, whereupon the leaves were laid to dry. On the 5th of July, 54 sclerotia in all were cut off the leaves and placed on filter paper in glass dishes with moist sand. The sclerotia were distributed over nine dishes, each dish with six sclerotia; three of the dishes were placed in a refrigerator at 3° C, while the rest of the dishes were left at room temperature (18 to 20° C) over the summer. In the latter six dishes vigorous black coatings of *Stachybotrytis alternans* unfortunately developed on the filter paper in the course of the summer, and quite overgrew the sclerotia so that these rotted and were discarded on the 10th of September. In the three dishes kept in the refrigerator, on the other hand, no *Stachybotrytis alternans* appeared, and the sclerotia were well preserved throughout the summer.

In order to investigate the viability of the sclerotia, two sclerotia were selected for germination on the 23rd of October. They were disinfected for one to two minutes with „Aktivin" (MELIN 1932), after which each sclerotium was divided into five pieces with a sterilised scalpel. The pieces were then

Fig. 2. Four naturally produced sclerotia of *Botryotinia globosa* germinating by 1 or 2 primordial apothecia. *Photo. 23. 3. 1949 E. Hellmers*

laid for germination on 2 p. c. potato-dextrose agar in Petri dishes, which were placed at room temperature. All the ten pieces of sclerotia germinated in the course of a few days with mycelium on which soon afterwards new sclerotia developed.

The remaining 16 sclerotia were left to stand in the glass dishes at 3° C in the refrigerator over the winter, and on seven of them primordial apothecia appeared in the course of March in the next year (1949). Thus on the 23rd of March a total of ten apothecia had developed, three of the sclerotia having germinated by two apothecia each, while four sclerotia only germinated by one apothecium each (fig. 2 and 3). More apothecia were not produced. The germination percentage of the sclerotia, however, must be said to be high, 43,8.

Fig. 3. A sclerotium with 2 primordial apothecia of *Botryotinia globosa*. *Photo. 23. 3. 1949 E. Hellmers*

The length of the apothecial stalk and the still unopened apothecium varied from 1,5 to 5,0 mm, and for the individual apothecia was as follows:

1,5 mm	3,5 mm
1,5 mm	4,0 mm
2,0 mm	4,0 mm
2,0 mm	4,5 mm
3,0 mm	5,0 mm

The sclerotia were now distributed in two glass dishes with eight sclerotia in each. One of the dishes, with six primordial apothecia, was placed on the veranda of the Department on the 24th of March, the other dish with four primordial apothecia was on the same day put into the garden of the Agricultural College. As the primordial apothecia in the former dish began to show signs of shrinking in the days that followed and began to be overgrown with mould, presumably because of the high temperature and the great moisture on the veranda, the dish was moved back to the refrigerator on the 29th of March and was finally, on the 5th of April, placed into the garden. The primordial apothecia had, however, obviously suffered damage from heat in consequence of their stay on the veranda, for the shrinking that had begun, continued, and the primordia withered before the apothecia had been fully developed.

Otherwise with the primordial apothecia in the dish placed into the garden on the 24th of March, the day after it was removed from the refrigerator. Two of the four primordia developed to full maturity in the course of April, and shed spores:

Fig. 4. Sclerotium with a fully developed apothecium of *Botryotinia globosa* (apothecium No. 1).
Photo. 19. 4. 1949 E. Hellmers

Fig. 5. Asci with spores of *Botryotinia globosa* (apothecium No. 1).
Photo. 19. 4. 1949 E. Hellmers

Fig. 6. Ascospores of *Botryotinia globosa*, drawn 24. 4. 1944. × 1000

Apothecium No. 1 (fig. 4). Sclerotium ellipsoidal, 4,5 × 3,0 mm; apothecial stalk 3 mm long, apothecial disc 2 mm in diameter. Asci 225 × 12 μ (fig. 5). Ascospores hyaline, ellipsoidal, 16,5 to 24 × 7,5 to 9,5 μ, averaging 21,1 × 8,6 μ (25 spores measured) (cp. fig. 6).

Apothecium No. 2. Sclerotium elongated ellipsoidal, 6 × 3 mm; apothecial stalk 3 mm long, apothecial disc 1,5 mm in diameter. Ascospores 13,0 to 21 (24) × 6 to 9 (12) μ, averaging 17,4 × 7,9 μ (25 spores measured).

B. Development of Apothecia from artificially produced Sclerotia

3. Culture Experiments with Sclerotia (1948—49)

It was mentioned above that on the 23rd of October 1948, two of the 18 sclerotia were selected which had developed in June on the gathered leaves and had since been left to stand at 3 ° C in the refrigerator, pure cultures being produced from these sclerotia. On the 1st of November these cultures were removed to test tubes containing 2 p. c. potato-dextrose agar which on the 5th of November were placed partly at about 15°, partly at about 20° C. At both temperatures numerous sclerotia developed in the course of a fort-

night (fig. 7). On the 3rd of December, when the sclerotia were about a month old, all the sclerotia from two test tubes were taken out and placed for germination on moist filter paper in two glass dishes. One of the dishes which contained seven sclerotia, was placed into the garden, the other dish with twelve sclerotia was placed into a refrigerator at 0 ° C.

When winter was over and the time approached when the sclerotia might be expected to begin germinating, both dishes were placed on the veranda of the Department on the 24th of March 1949. A few days later, on the 29th of March, the dishes were placed into a north window where the temperature was not as high as in the veranda. Since, however, the sclerotia did not show any signs of germinating both dishes were, at the beginning of July, put into a refrigerator and left there till December 1949.

Upon inspection of the dishes on the 15th of December 1949 it turned out that one of the sclerotia had germinated by a monster apothecial primordium. The development of the monstrosity was no doubt due to the lack of light in the refrigerator. The dishes were then again placed into the north window of the department, and in the course of the following days one more sclerotium germinated by two normal apothecial primordia, and another sclerotium by one normal primordium. After the 28th of December no more primordia were produced, and those already formed ceased growing before they were mature and could shed spores (fig. 8).

It appears, then, from this experiment that it is possible to make sclerotia, formed in artificial cultures, germinate by apothecia, even though the germination percentage in the present case was low, only 14 to 17, while for the „naturally" produced sclerotia it was 43,8 (cp. above). It further appears from the experiment that the sclerotia are not able to germinate by apothecia immediately after their formation, but must undergo a long resting period, in the present case extending over about twelve months

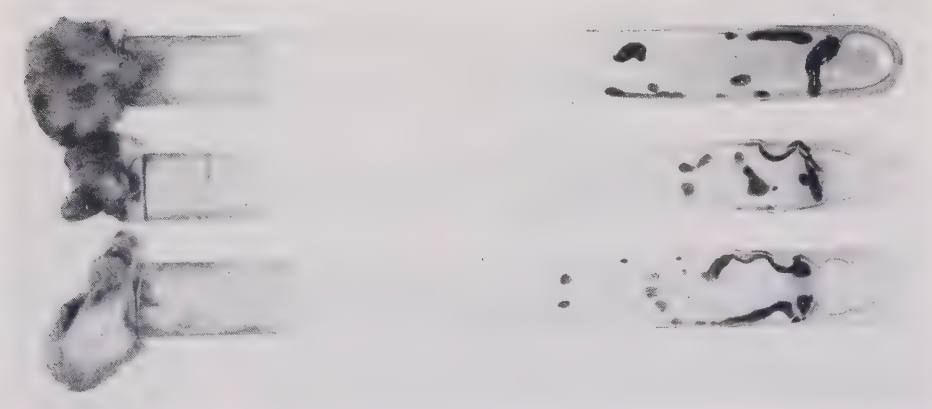


Fig. 7. Test tubes with 2 p. c. potato-dextrose agar with sclerotia of *Botrytis globosa*. Inoculated 1. 11. 1948. *Photo. 1. 12. 1948 E. Hellmers*

Fig. 8. Sclerotia produced in a culture in November 1948, which germinated in December 1949 by primordial apothecia. *Photo. 17. 12. 1949 E. Hellmers*

(from November 1948 to December 1949). It is interesting to note that the lenght of the resting period was of the same order of magnitude as for the sclerotia developed naturally on leaves, the resting period of which was about ten months, from June to March-April (cp. above).

III. Infection Experiments

From the two apothecia that developed in April 1949 (cp. above) spore isolates were produced on the 17th and the 25th of April respectively, the apothecia being made to shed spores in Petri dishes containing 2 p. c. potato-dextrose agar. The ascospores at once germinated and formed mycelium cultures which entirely resembled the cultures produced from sclerotia (cp. HELLMERS 1943, pp. 26—29). Later on sclerotia also developed in the cultures.

Both spore isolates were used for infection experiments made with plants of *Allium ursinum* which had been planted in the College garden the previous year (1948). On the 21st of May, two flowering plants were inoculated with isolates No. 1 and No. 2 respectively. On several leaves of each plant, as well as on the peduncle, small blocks of agar from a pure culture were cautiously placed, the mycelium of the block being turned

Fig. 9. Right, infested plant of *Allium ursinum*, artificially infected 21. 5. 1949; left, control plant. *Photo. 27. 5. 1949 E. Hellmers*

Fig. 10. Detail of the artificially infected *Allium ursinum* plant shown in fig. 9.
Photo. 27. 5. 1949 E. Hellmers

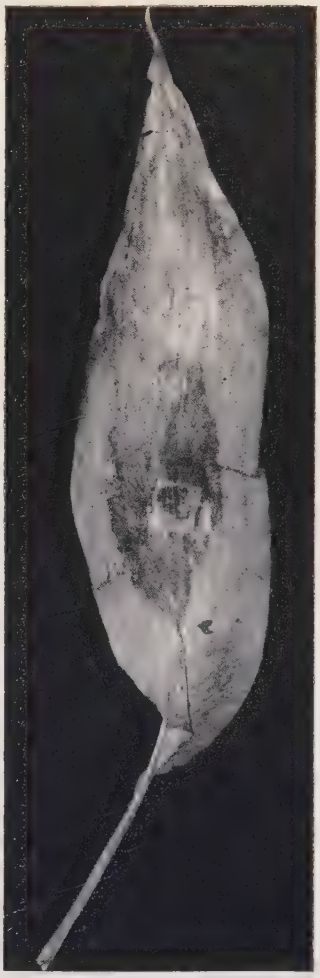


Fig. 11. Infested leaf of *Allium ursinum*, artificially infected with an agar culture of *Botryotinia globosa*, produced from conidia developed on an artificially infected plant. Inoculated 27. 5. 1949.
Photo. 30. 5. 1949 E. Hellmers

down towards the surface of the leaf. On the leaves of a third plant, the control plant, sterile pieces of agar were similarly placed. Over all the experimental plants were put glass covers coated on the inner side with moist filter paper.

Already on the 23rd and 24th of May distinct symptoms were seen, water-soaked areas appearing on all the inoculated leaves (cp. fig. 11), while the leaves of the control plant did not develop any symptoms of disease. And on the 27th of May, six days after the inoculation, there had developed, not only on the surfaces of the leaves but also on the peduncles, abundant coatings with conidiophores with ripe conidia (figs. 9 and 10). The leaves had begun to wither and the peduncles had broken as a result of the attack (fig. 10).

The conidia measured 12 to 18 × 11 to 18 μ, averaging 15 × 14,75 μ (25 conidia measured).

Of the conidia several pure cultures were made, which agreed entirely with the cultures produced from both sclerotia and ascospores.

On the 27th of May leaves of *Allium ursinum* were again inoculated with an agar culture thus produced from conidia, and already a couple of days later positive infections had again developed (fig. 11).

In this connection it is interesting to note that E. HELLMERS has shown in laboratory experiments that *Botrytis globosa* also is able to infect bulbs both of *Allium cepa* and *A. ascalonicum,* and like *Botrytis allii* to produce a vigorous necrosis of the bulbous tissue (HELLMERS 1943).

IV. The life Cycle of the Fungus

The pathogenicity of the fungus isolated from ascospores has thus been demonstrated, just as the various stages of the fungus have been accounted for. The life cycle of the fungus must then be supposed to be as follows:

The sclerotia which have wintered on the ground germinate at the close of March by apothecia which ripen in the course of April and shed ascospores. At the same time *Allium ursinum* has commenced to send up leaves from the earth. The ascospores produce primary infections at the close of April, and the conidia developed on the leaves produce secondary infections in the course of May. The incubation period is only two or three days, and the fructification period three to four days, hence several generations of conidia may be produced in the course of May and the first half of June. In June sclerotia develop on the infected, half-withered leaves; upon the collapse of the leaves, the sclerotia are liberated and winter in the surface of the soil. In March of the next spring, that is to say, nine to ten months after their production, the sclerotia begin to germinate by apothecia. The cycle is thus closed.

The above-mentioned culture experiments strongly suggest that this species of fungus is homothallic and self-fertile, and thus shows the same sexual type as *Sclerotinia sclerotiorum* (cp. DRAYTON GROVES 1952).

Whether a spermatisation of the sclerotia with microconidia is necessary for the germination of the sclerotia by apothecia has not been investigated.

V. Diagnosis

Botryotinia globosa sp. n

St. ascoph. Apothecia pallide brunnea, e sclerotiis singula vel dua oriunda, primo cyathiformia, dein discoidea, laevigata, 1—2 mm diametro; stipites cylindracei, concolores, basim versus nigrescentes, laevigati, 1—5 mm alti. Asci cylindracei, 225 × 12 μ. Ascosporae 8, monostichae, hyalinae, ellipsoideae, (13) 16,5—24 × 6—9 (12) μ.

St. sclerotioph. Sclerotia primo viride brunnea, dein nigra, complanata, ad nervos foliorum crescentia, elongata-sublinearia 3—15 mm × 1—2 mm, inter nervos crescentia, ovato-globosa, 1,5—5,0 × 1—3 mm.

S t. m a c r o c o n i d i o p h. *Botrytis globosa* Raabe, Hedwigia 78, p. 71, 1938; Hellmers 1943, p. 10 et 14; Webster & Jarvis 1951, p. 187. — Conidiophora primo hyalina, dein fumato-grisea, 300—900 μ (in medio ca. 500 μ) alta, 10—20 μ lata. Conidia in capitulis compactis, hyalina, globosa — subglobosa, papillata, (10) 12—18 (21) × 12—18 (20) μ (in medio 15,1 × 14,0 μ) (25 conidia mensa sunt), per tubulos germinationis singulos ad quatuor pullulantia.

S t. m i c r o c o n i d i o p h. Microconidia hyalina, globosa, 3—4 μ diametro.

H a b. Apothecia tantum in sclerotiis artificialiter germinatis in mensibus Aprili et Decembri visa sunt. — St. macroconidioph. in foliis *Allii ursini* Maio-Iunio.

D i s t r i b u t i o. St. macroconidioph. in Germania, Dania et Anglia.

Type specimen deposited in the Herbarium of the Department of Plant Pathology, the Royal Veterinary and Agricultural College, Copenhagen.

VI. Physiology

1. Influence of the Temperature on the Production of Sclerotia

On the 1st of November 1948, 15 test tubes containing 2 p. c. potato-dextrose agar were inoculated with agar pieces with mycelium from fresh cultures derived from sclerotia. On the 5th of November, five of the inoculated test tubes were placed into a refrigerator at 4 °, five tubes at 15 °, and five tubes at 20 ° C. Already after ten days (November 15th) many sclerotia were seen in the tubes placed at 15 ° and 20 °, while no sclerotia had as yet been produced in the test tubes placed at 4 ° C. Only after three weeks (November 26th) sclerotia did also appear in the latter test tubes, but the formation of sclerotia was here less abundant than at the higher temperatures.

2. Influence of the Light on the Production of Sclerotia

That it was not the darkness in the refrigerator but the low temperature which was the cause of the later and the less abundant formation of sclerotia in the above-mentioned experiment, will appear from the experiment to follow.

On the 23rd of May 1949, three Petri dishes with fresh pure cultures produced from ascospores were placed into the light in one of the windows of the Department facing north, where the temperature at that time was about 20 ° C. On the same day three Petri dishes with similar cultures were placed into the dark in the inoculation room of the Department, where the temperature was 18 to 20 ° C. About ten days later (June 3rd) it was seen that far more sclerotia had developed in the dishes placed in constant darkness than in the dishes placed in the daylight. From this it appears that, all other things being equal, the sclerotia production in *Botrytis globosa* is livelier in darkness that in light.

3. Influence of the Temperature on the Rate of Growth of the Mycelium

A couple of comparative experiments were made with spore isolates Nos. 1 and 2 (cp. above) to illustrate the influence of the temperature on the rate of growth of the mycelium. Dishes with both spore isolates were placed at a temperature of 12, 16, 19, 22, and 27 ° C. In the first temperature experiment isolate No. 1 grew best at 22 ° C and isolate No. 2 best at 19 ° C. In the next experiment the case was reversed, since now isolate No. 2 grew more rapidly than isolate No. 1 at 22 ° C. The optimum for the growth of the mycelium of *Botrytis globosa* thus lies at about 19 to 22 ° C (cp. E. HELLMERS 1943, pp. 35—36).

Microconidia develop in large numbers in pure cultures produced both from sclerotia, conidia, and ascospores. The number of microconidia formed in the course of eight days seems to be considerably larger at 20 ° than at 12 ° C.

Summary

Attacks of *Botrytis* on *Allium ursinum* were first shown by J. SCHRÖTER in 1879 in Germany, and by E. ROSTRUP in 1882 in Denmark. In 1933 the present writer found the same *Botrytis* attacks in Denmark (Bogenaes Forest), and the presumption was that it was a new, not previously recorded *Botrytis* species. In 1938 the fungus was described by A. RAABE from Germany as a new species, *Botrytis globosa*, and in 1943 E. HELLMERS gave a detailed description both of the attack and of the morphology and cultural conditions of the fungus. In 1951 the fungus was recorded from England by WEBSTER & JARVIS.

In 1944 and again in 1949 the present writer showed that sclerotia produced in nature in June germinated in March of the following year by apothecia, which ripened in April and then shed spores. The sclerotia had been kept cool on moist sand in glass dishes, either in the garden of the Agricultural College (1943—44) or at 3 ° C in a refrigerator (1948—49). Sclerotia developing in November in pure cultures on potato-dextrose agar germinated by apothecia too, after being kept for a long time (about eleven months) at 3 ° C.

By isolates produced both from ascospores and from conidia, leaves and peduncles of *Allium ursinum* could be infected. The incubation period was two to three days, the fructification period three to four days.

The life cycle of the fungus is undoubtedly as follows. The sclerotia surviving through the winter germinate at the close of March by apothecia which ripen in April. The ascospores infect the leaves of *Allium ursinum* and in the course of May the conidia developed on the leaves produce secondary infections. In June sclerotia are produced on the leaves. They are liberated when the leaves wither, and winter on the ground.

It has thus been shown experimentally that *Botrytis globosa* has an apothecial stage which must be referred to *Sclerotinia* s. lat., and since the conidial stage belongs to *Botrytis*, the place of the species must be within

the *Botryotinia*. A Latin diagnosis of *Botryotinia globosa* sp. n. is given on page 250. All the *Botrytis* species within the subgenus *Sphaerobotrytis* so far known (four in all) have now been seen to have a *Botryotinia* stage (cp. Buchwald 1949).

Botryotinia globosa is undoubtedly homothallic and self-fertile.

On potato-dextrose agar the production of sclerotia is livelier at 15° and 20° C than at 5° C, and it is livelier in the dark than in daylight. The optimum for the growth of mycelium on potato-dextrose agar is 19 to 22° C. A considerably larger number of microconidia is produced at 20° than at 12° C.

Zusammenfassung

***Botryotinia (Sclerotinia) globosa* sp. n. auf *Allium ursinum*, das perfekte Stadium von *Botrytis globosa* Raabe**

Ein Befall von *Botrytis* auf *Allium ursinum* wurde von J. Schröter 1879 in Deutschland und von E. Rostrup 1882 in Dänemark nachgewiesen. Im Jahre 1933 fand der gegenwärtige Verfasser wieder denselben *Botrytis*-Befall in Dänemark (Bogenäs-Wald), und es wurde vermutet, daß es sich um eine neue, bisher nicht beschriebene *Botrytis-Art* handelte. Im Jahr 1938 wurde der Pilz von A. Raabe aus Deutschland als eine neue Art, *Botrytis globosa*, beschrieben, und 1943 gab E. Hellmers eine ausführliche Beschreibung von dem Befall sowohl als von der Morphologie und den Kulturbedingungen des Pilzes. Im Jahre 1951 wurde der Pilz auch aus England von Webster & Jarvis kurz beschrieben.

Der Verfasser wies 1944 und wieder 1949 nach, daß Sclerotien, die in der Natur im Juni gebildet sind, erst im folgenden Frühjahr (März) mit Apothecien keimen, die im April reifen und dann Ascosporen ejakulieren. Die Sklerotien waren kühl auf feuchtem Sand in Glasschalen aufbewahrt gewesen, entweder im Garten der Landwirtschaftlichen Hochschule (1943 bis 1944) oder bei 3° C im Thermostaten (1948—49). Auch die Sklerotien, die sich in Reinkulturen auf Kartoffel-Dextrose-Agar im November entwickelten, keimten nach längerer Aufbewahrung (etwa elf Monate) bei 3° C mit Apothecien.

Mit Isolaten aus sowohl Ascosporen als auch Konidien hergestellt, war der Verfasser imstande, Blätter und Blütenstengel von *Allium ursinum* zu infizieren. Die Inkubationszeit beträgt zwei bis drei Tage, die Fruktifikationszeit drei bis vier Tage.

Der Lebenslauf des Pilzes ist ohne Zweifel wie folgt: Die überwinterten Sklerotien keimen Mitte März mit Apothecien, die im April reifen. Die Ascosporen infizieren die Blätter von *Allium ursinum*, und im Laufe des Mai rufen die auf den Blättern entwickelten Konidien sekundäre Infektionen hervor. Im Juni werden auf den Blättern Sklerotien gebildet, die bei dem Verwelken der Blätter zu Boden fallen und hier überwintern.

Es ist hiermit experimentell festgestellt, daß *Botrytis globosa* ein Apotheciumstadium besitzt, das zu *Sclerotinia s. lat.* hingeführt werden muß, und

zwar zu *Botryotinia*, weil die zugehörige Konidienfrucht Vertreter der Formgattung *Botrytis* ist. Eine lateinische Diagnose ist auf Seite 250 angegeben. Es hat sich nun herausgestellt, daß alle bisher beschriebenen *Botrytis*-Arten der Untergattung *Sphaerobotrytis* (im ganzen vier) ein *Sclerotinia*-, und zwar ein *Botryotinia*-Stadium besitzen.

Botryotinia globosa ist ohne allen Zweifel homothallisch und selbstfertil.

Bei Züchtung des Pilzes auf Kartoffel-Dextrose-Agar ist die Sklerotienbildung lebhafter bei Temperaturen von 15° und 20° als bei 5° C und lebhafter im Dunkeln als im Tageslicht. Das Optimum des Mycelwachstums auf Kartoffel-Dextrose-Agar liegt bei einer Temperatur von 19 bis 22° C. Die Mikronidienproduktion ist beträchtlich höher bei einer Temperatur von 20° als bei 12° C.

Acknowledgments

The writer gratefully acknowledges the assistance given by assistant, mag. agro. Henrik Alb. Jørgensen during the investigation of the perfect stage of this fungus. He is also indebted to amanuensis, mag. agro. E. Hellmers for his assistance with the photographs and to civil engineer E. Brockmeyer for help in preparing the Latin diagnosis.

Literature cited

Buchwald, N. F.: Studies in the Sclerotiniaceae. I. Taxonomy of the Sclerotiniaceae. Kgl. Veterinaer- og Landbohøjskoles Aarsskrift 1949: 75—191. 1949.

Drayton, F. L. & Groves, J. W.: Stromatinia narcissi, a new sexually dimorphic discomycete. Mycologia 44: 119—140. 1952.

Gregory, P. H.: Sclerotinia polyblastis n. sp. on Narcissus, the perfect stage of Botrytis polyblastis Dowson. Trans. Brit. Mycol. Soc. 22: 201—203. 1938.

— —: Studies on Sclerotinia and Botrytis. I. Trans. Brit. Mycol. Soc. 25: 26—40. 1941.

Hellmers, E.: Botrytis on Allium species in Denmark. Botrytis allii Munn and B. globosa Raabe. Meddel. No. 25 fra Plantepatologisk Afdel., Kgl. Veterinaer- og Landbohøjskole, København 1943.

Melin, E.: Eine Methode zur Beseitigung von Bakterien bei Kulturversuchen mit Pilzen. Svensk botan. Tidskr. 26: 327—332. 1932.

Raabe, A.: Parasitische Pilze der Umgebung von Tübingen. Hedwigia 78: 1—106 (p. 71). 1938.

Schröter, J.: Weiße Heidelbeeren. Eine Pilzkrankheit der Beeren von *Vaccinium myrtillus* L. Hedwigia 18: 182. 1879.

Webster, J. & Jarvis, W. R.: The occurrence of Botrytis globosa on Allium ursinum. Trans. Brit. Mycol. Soc. 34: 187—189. 1951.

Aus der Holzversuchsanstalt, Bratislava

Kernbildung der Buche (*Fagus silvatica* L.)

Von

J. Paclt

Mit 8 Abbildungen

Bereits in unserem ersten Beitrag zur Genese des Falschkernes (Paclt in litt.) haben wir — mit gewisser Beschränkung[1]) — die von Gäumann angenommene Theorie über die Abwehrreaktionen zur Erklärung der Kernbildung der Buche (*Fagus silvatica* L.) akzeptiert. Gleichzeitig sind wir auf Grund eigener Untersuchungen zu dem Ergebnis gekommen, daß eine abnorme Luft-Penetration zwischen zwei Wundbrennpunkten den eigentlichen Mechanismus dieser Reaktionen vorstellen darf; eine in der Zweigzone des Baumes entstandene und eine andere, nahe dem Wurzelsystem oder meistens direkt in Wurzeln lokalisierte Wundgruppe wirken dann als genannte zwei Brennpunkte der Zentralverkernung.

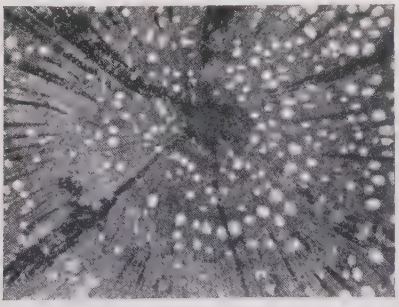


Abb. 1. Xylemstrahlen einer Wurzel nach induzierter Beschädigung derselben. Demonstration der Luftleitfähigkeit der Strahlen durch Ketten von Luftblasen. Lin. Vergr. 30×. (Orig.)

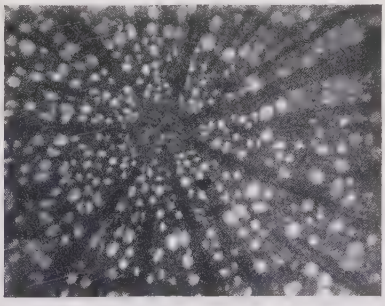


Abb. 2. Xylemstrahlen eines Kontrollwurzelschnittes. Lin. Vergr. 30×. (Orig.)

[1]) Diese betrifft die an sich selbst allerdings unanfechtbare Einteilung in norm- und hyperergische Reaktionen.

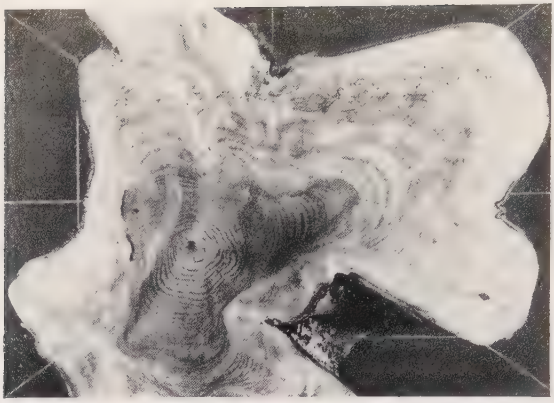


Abb. 3. Transversalschnitt durch den Stock mit falschem Kern eines verkernten Buchenstammes. Ev.-Nr. N 1, Nemšová bei Trenčín, Slowakei. (Orig.)

Nun mag die Frage beantwortet werden, auf welche Weise die obengenannte Penetration der Luft stattfindet. Im allgemeinen wissen wir, daß die Gase sich in der Pflanze durch eine einfache Diffusion verbreiten; im Bereich der einzelnen Zellen verbreiten sie sich jedoch im Rahmen eines Stromes von Lösungen, wo natürlich physikalisch abweichende und, wie bekannt, etwas mehr komplizierte Prozesse zum Ausdruck kommen. Eine Zentralwanderung der Gase in der Pflanze wird dagegen — allem Anschein nach — nur durch eine einfache Diffusion vermittelt werden. Andrerseits läßt CONARD (1947, p. 5) jedoch zu, daß außer der einfachen Diffusion eine andere Wanderung der Gase in der Pflanze gut vorstellbar ist, indem die Gase durch ein als Gebläse und Absauger automatisch funktionierendes System verbreitet werden konnten.

Anscheinend findet die Luftdiffusion im Holz nicht nur mittels der Gefäße bzw. Tracheiden statt, sondern es kommen weitere Xylemelemente für Luftleitung in Betracht. Dies gilt wohl in erster Linie von den Xylemstrahlen; vgl. EAMES und MAC DANIELS (1947, p. 217): „The vascular ray, from its structure and position, seems to serve for transverse intercommunication in the living parts of vascular tissue, and perhaps also through accompanying, radially extended intercellular spaces, to some extent makes possible an interchange of gases with the outside atmosphere." Unsere an jungen Wurzeln angestellten Versuche scheinen diese Voraussetzung nur gestützt zu haben.

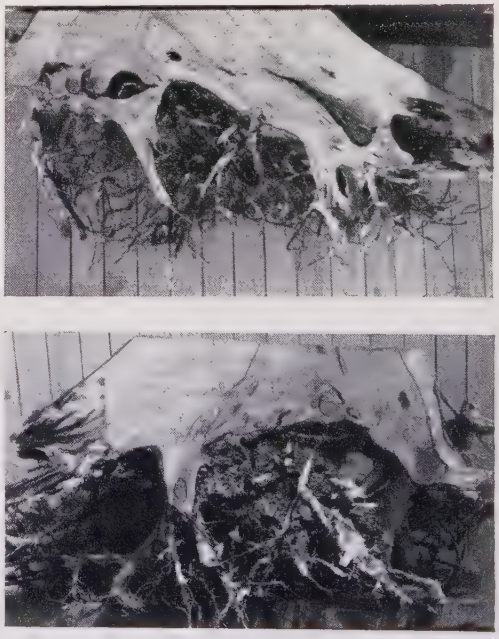


Abb. 4—5. Vertikalschnitte durch den auf der Abb. 3 abgebildeten Stock. (Orig.)

Die Außenintegumente einiger unter 2 cm starken Buchenwurzeln wurden beseitigt, womit eine oberflächliche Wundstelle herbeigeführt worden ist. Die hergestellten Präparate zeigten dann in Xylemstrahlen Ketten von Luftblasen (Abb. 1), was bei den Kontrollpräparaten aus den unbeschädigten Wurzeln gar nicht der Fall war (Abb. 2). Diese Luftblasen sind demgemäß als eine auf artifizielle Weise entstandene JAMINS-Kette zu deuten. Somit scheint also ein Beweis für die Luftleitfähigkeit der Xylemstrahlen geliefert zu werden.

Zutreffend schreibt CONARD (l. c., p. 5), daß „... les gaz peuvent se trouver à une pression supérieure ou inférieure à la pression atmosférique dans les méats aérifères des végétaux". Bekanntlich ist die Luft, die sich mit der Zeit im Holz anreichert, sauerstoffärmer als die der freien Atmosphäre (TRENDELENBURG 1939, p. 159, 246, 249), was die physikalische Voraussetzung für eine normale oder abnorme (da Kernbildung!) Penetration frischer Luft bildet.

In dem sogenannten „alburnum internum" der Buche (dem zentralen Teil des Holzstammes) läßt sich, wie MØLLER und MÜLLER (1938) wiederholt feststellen konnten, eine Respiration nachweisen. Keine Atmung ist dagegen nach diesen Autoren im falschen Kernholz der Buche vorhanden. Im scheinbaren Widerspruch mit dem Gesagten stehen die Erfahrungen von TRENDELENBURG (1939, p. 148) und einigen anderen Autoren, indem Luftanteile im falschen Kern der Buche bestimmt werden konnten (so z. B. nach TRENDELENBURG 25 bis 30 % Luft bezogen auf den frischen Rauminhalt). Ferner muß man schon von Hause aus an einen gewissen Luftanteil im falschen Kern denken, mindestens in späteren, durch Pilzangriff ausgezeichneten Stadien der Verkernung, denn das Leben der Pilze ohne Luftzutritt ist nicht

Abb. 6—7. Einzelne Wurzeln des auf den Abb. 3 bis 5 abgebildeten Stockes. (Orig.)

Abb. 8. Eine oberflächliche Wurzel mit falschem Kern. (Orig.)

möglich. Leider hat TRENDELENBURG über das Entwicklungsstadium seines als Versuchsmaterial benutzten falschen Kerns nichts gesagt. Diese Überlegungen führen zu dem Schlusse, daß zwar keine wahrnehmbare generelle Respiration im falschen Kern stattfindet, daß dieser aber — mindestens in späteren Entwicklungsstadien — nicht als luftfrei angesehen werden darf.

Nach diesen Einleitungsworten gehen wir zur eigentlichen Diskussion über die Genese des falschen Kerns über. Im Einklang mit unseren Beobachtungen möchten wir die Kernbildung bei der Buche durch folgendes Schema darstellen:

Ursprünglicher Impuls	Auslösung	Lokalisierung	Prozeß	Reaktion
Allgemein nicht-spezifisch: Mangel an Beleuchtung im Bestand, Frost, mechanischer Angriff	Spezifisch: traumatisch (offene Wunden)	Krone (Äste) ⋮ Grundzone (Wurzeln)	Abnorme Diffusion der Luft durch den Stamm; Nekrose der Traumata	Bildung der Tylen[2]) und Oxydation von Gerbstoffverbindungen (histogene u. gummöse Demarkationen) = Abwehrreaktionen des Baumes

[2]) Etymologie: *τύλος* ; die gewöhnliche Schreibweise „Thylle" ist unrichtig.

GÄUMANN (1946, p. 404—406) hat außerdem diese Reaktionen für antitoxisch und in späteren Entwicklungszuständen des Kernes für anti-infektionell erklärt.

Eine kritische Besprechung der Wundbrennpunkte befindet sich nun in unserem ersten Beitrage (PACLT in litt.). Hier sei daher nur kurz auf die Hauptresultate hingewiesen. Wir haben bewiesen, daß die histogenen und gummösen Demarkationsreaktionen nur dann zur Bildung eines zentralen Falschkernes hinreichen, wenn Wunden in der Krone einerseits und in der Wurzelzone andrerseits gleichzeitig auftreten und auf diese Weise eine pathologische Durchlüftung des Stammes zur Folge haben. Bis zur Zeit unserer Forschungen wurde kein direkter Beweis eines Vorhandenseins von falschem Kern in den Wurzeln geliefert, obzwar JAROSCHENKO (1935), der das Problem der Kernbildung bzw. deren Mechanismus erfolgreicher als jeder andere

vor ihm studierte, das Absterben der Wurzeln beobachtet hat und diesen Umstand als einen der Einflüsse auf die Kernbildung bei *Fagus orientalis* Lipsky betrachtet.

Die Art *Fagus silvatica* L. gehört zu den Bäumen, deren Wurzelsystem keine Pfahlwurzel besitzt. Eine Analyse unseres Materials hat keine Differenzen im Vergleich mit der Beschreibung der Wurzelsystemstruktur von *Fagus orientalis* Lipsky entdeckt (vgl. Popova 1951).

Das Vorhandensein des falschen Kernes in den Wurzeln verkernter Bäume war bisher noch nicht erwiesen. Wir bringen daher eine als Beispiel dienende Serie der Abbildungen (Abb. 3 bis 8), aus denen man klar sieht, daß der falsche Kern bereits in den Wurzeln vorkommt, was für die Begreifung und Erklärung der Kernbildung von großer Bedeutung ist (vgl. oben bei der Besprechung der Wundbrennpunkte). Nähere Erläuterungen sind im Text zu den betreffenden Abbildungen angeführt.

Biologisches Laboratorium,
Institut für Holzforschung,
Bratislava

Literaturverzeichnis

Conard, A., 1947: Les Mouvements des Fluides dans les Végétaux. Trav. Jardin exp. Jean Massart, Univ. libre Bruxelles, 48 pp.

Eames, A. J., & Mac Daniels, L. H., 1947: An introduction to plant anatomy. New York u. London (McGraw-Hill).

Gäumann, E., 1946: Pflanzliche Infektionslehre. Basel (Birkhäuser).

Jaroschenko, G., 1935: Der Einfluß der natürlichen Reinigung des Stammes von Ästen auf die Bildung des falschen Kerns bei der Buche und einiger ähnlicher Bildungen bei anderen Holzarten. Forstwiss. Centralbl. **57**, 375—379.

Møller, C. M. & Müller, D., 1938: Aanding i äldre stammer. Det forstl. Forsøgsväsen Danmark **15**, 113.

Paclt, J., in litt.: Vznik nepravého jadra u buka *(Fagus sylvatica* L.). (Formation of the „false" heart-wood in beech.) Sborn. čsl. Akad. zem.

Popova, N. S., 1951: Kornevaja sistema vostočnogo buka i drugich rastenij bukovych lesov na Kavkaze. Geobotanika **7**, 90—113.

Trendelenburg, R., 1939: Das Holz als Rohstoff. München u. Berlin (Lehmann).

Tuzson, J., 1905: Anatomische und mykologische Untersuchungen über die Zersetzung und Konservierung des Rotbuchenholzes. Berlin (Springer).

Istituto di Patologia Vegetale — Università di Milano
Direttore: Prof. E. Baldacci

Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso (*Oryza sativa* L.)

VIII. La malattia del riso da *Sclerotium oryzae* Catt. (= *Helminthosporium sigmoideum* Cav. = *Leptosphaeria salvinii* Catt.)

Di

G. Corbetta

9 Tavole

Premessa

In un precedente lavoro pubblicato in questa stessa serie di contributi, Baldacci (16) aveva richiamata l'attenzione sull'alterazione del riso provocata da *Sclerotium oryzae* Catt. nelle risaie del pavese. Ho avuto modo di studiare lo stesso agente in risaie fortemente attaccate del vercellese e qui a seguito ne espongo le ricerche effettuate; le notizie bibliografiche più interessanti saranno riferite nel testo durante l'esposizione dei risultati volta volta ottenuti. I lavori in argomento sono citati nel lungo elenco bibliografico posto a fine lavoro.

Dopo le ricerche di Tullis (136—140), che aveva identificato due stadi metagenetici, l'*Helminthosporium sigmoideum* Cav. e la *Leptosphaeria salvinii* Catt. con lo *Sclerotium oryzae* Catt., la prima preoccupazione è stata di confermare anche in Italia tale ciclo di sviluppo. Baldacci (15) aveva messo in evidenza la presenza di conidi di *H. sigmoideum* unitamente a sclerozi di *S. oryzae* su materiale d'erbario del Laboratorio Crittogamico di Pavia (N. 425), portante la seguente etichetta: *Helminthosporium sigmoideum* Cav. in vaginis mortuis Oryzae Carbonara al Ticino, legit. Cavara, sett. 1888. Così pure, conidi riferibili a *H. sigmoideum*, Baldacci segnala in piante attaccate da *S. oryzae* (op. cit. pag. 9). Lo stesso, (comunicazione orale), per stimolare la formazione di spore, aveva posto all'aperto durante tutto l'inverno tubi di coltura senza per altro ottenere dalle retrocolture di tali sclerozi, nè conidi, nè periteci. Risultati negativi han dato le colture eseguite per un ceppo di *S. oryzae* isolato da risaie del vercellese e per un altro isolato da risaie del milanese. Pure negativi sono stati i risultati delle infezioni su piantine di riso, razza Pierrot, cresciute sterilmente su agar Czapek seguendo una tecnica già usata da Baldacci e Ciferri (16).

1. Ricerche sugli stadi metagenetici

La mia attenzione fu rivolta alle stoppie di riso infette da *S. oryzae*, che raccolsi nel mese di novembre del 1949 in un mio campo nel vercellese. Nel febbraio 1950 ebbi la fortuna di trovare conidi di *H. sigmoideum* su guaine di stoppie raccolte allo stato umido e conservatesi umide fino al momento dell'esame al microscopio. Tali conidi erano del tutto simili a quelli descritti da CAVARA nel 1888 e da TULLIS nel 1933 (vedi avanti tav. 2 fig. 2 a). I conidi disseccando si raggrinziscono ed assumono una leggera torsione a spirale. Raramente sono visibili conidi con due setti, oppure con una estremità largamente ottusa. Si è potuto constatare al microscopio che, quando il preparato allestito in acqua distillata si asciuga, molti conidi nel raggrinzirsi e nel torcersi a spirale si disarticolano nei setti rompendosi. Bagnando e lasciando asciugare i conidi per varie volte, essi si distruggono per la maggior parte nel modo suddetto. Questo spiega, a mio avviso, la ragione di molti insuccessi nelle ricerche precedenti. Evidentemente, solo i conidi che si trovano su stoppie che si mantengono sempre umide, o senza passare repentinamente dall'umido al secco, riescono a conservarsi integri forse fino a primavera; quelli portati da stoppie soggette a rapido e continuo passaggio di umidità per la maggior parte periscono. Avuto però la conferma dell'esistenza dei conidi di *H. sigmoideum*, rimaneva da sorvegliare le piante di riso nei campi infetti onde cogliere il momento della comparsa, osservare su quali organi si formavano, indagare la loro funzione ed eventualmente isolarli in coltura pura.

Solo dopo la prima decade di luglio si riuscì ad osservare conidi di *H. sigmoideum* sulle guaine emergenti dall'acqua delle piante di riso presentanti macchie necrotiche oramai marcescenti.

Contrariamente a quanto asserì CATTANEO e in accordo alla opinione di BALDACCI (15), i conidi non si trovano sulle foglie e solo raramente sulla nervatura centrale delle foglie interne del cespo, già morte e impregnate d'acqua.

Il numero dei conidi va aumentando sempre più e raggiunge il massimo verso la fine di luglio. Dopo la loro formazione, la maggior parte di essi germinano sulle medesime piante su cui si trovano emettendo uno o due tubi promicelici terminanti frequentemente con un appressorio, e dando origine ad un nuovo ciclo secondario di infezioni. Pur non essendo riusciti ad ottenere in coltura pura i conidi, tuttavia in una semina in agar patata con molti conidi si ebbe micelio con sclerozi di *Sclerotium oryzae* e periteci di *Leptosphaeria salvinii*. Dopo circa 35 giorni dalla comparsa dei conidi sulle piantine, si sono formati sclerozi di *S. oryzae* entro le guaine fogliari. Questi primi sclerozi non erano molto numerosi ed occupavano esclusivamente il tessuto lacunoso delle guaine: nessun sclerozio era visibile nell'interno del culmo. Sulle stesse piantine, dopo solo 20 giorni circa dalla comparsa dei conidi di *H. sigmoideum*, e cioè verso la fine di luglio o i primi di agosto, sono apparsi anche periteci contenenti ascospore simili a quelle descritte da CATTANEO nel 1877 per la *Leptosphaeria salvinii* (vedi avanti Tavola 2,

fig. 3 c). Le piante presentanti periteci sono assai scarse, come pure scarsi sono tali organi sulla stessa pianta; molto raramente se ne trovano da 5 a 10 riuniti in gruppo.

Dopo circa due settimane dalla comparsa dei periteci, la maggior parte di essi apparivano vuoti oppure contenevano un ammasso di ascospore libere, la maggior parte delle quali in via di germinazione con tubi promicelici apicali e anche centrali. Evidentemente anche le ascospore davano origine ad un secondo ciclo di infezioni secondarie. Si è eseguito l'isolamento in cultura delle ascospore, ottenendo dalla loro germinazione abbondante micelio con sclerozi. Anche le retrocolture da sclerozi ottenuti dalla *Leptosphaeria* hanno dato di nuovo periteci ed ascospore di *L. salvinii.* Tale risultato non è stato, però, generale per tutti gli sclerozi da *Leptosphaeria;* i periteci si son formati solo da un ceppo particolare presentante caratteri morfologici un pò diversi da quelli degli altri ceppi e che viene contrassegnato come ceppo B (vedi avanti). Contrariamente a quanto è asserito da TULLIS, sia questo ceppo B, sia il ceppo A che dà solo sclerozi, non hanno prodotto in coltura i conidi di *Helminthosporium sigmoideum.*

Rimaneva ancora da confermare un'altra acquisizione fondamentale del TULLIS, cioè la formazione di conidi di *H. sigmoideum* direttamente dagli sclerozi germinanti in acqua. Tale comportamento degli sclerozi non ha solo importanza ai fini del ciclo biologico del fungo, ma è sopratutto importante ai fini patogenetici, cioè al modo dello stabilirsi della infezione sulle piante di riso. È appunto indagando tale aspetto della malattia che siamo pervenuti a risultati altrimenti non raggiungibili. Le prime indagini sulla germinazione degli sclerozi in acqua sono state condotte con i metodi più rigorosi suggeriti dalla tecnica di laboratorio, cioè si è impiegato acqua distillata sterile in matraccini sterilizzati, seminandovi gli sclerozi previamente disinfettati per alcuni minuti in una soluzione alcoolica di bicloruro di mercurio all'1 per mille. I matraccini così insemenzati erano posti in termostato, parte a 21 °—23 ° C e parte a 35 °—37 ° C, altri erano tenuti a temperatura ambientale a 18 °—20 ° C; dopo circa una settimana venivano aperti sterilmente alla fiamma, prelevando gli sclerozi galleggianti e osservandoli al microscopio. Le osservazioni erano ripetute alla distanza di 4—5 giorni l'una dall' altra. Sugli sclerozi galleggianti non si è mai osservato alcuna formazione di micelio; invece attorno a quelli aderenti alla parete dei matraccini era visibile una sottile trama micelica, dopo 15—20 giorni dalla semina.

L'esperienza è stata ripetuta nello stesso modo, ma in ambiente non sterile, impiegando acqua di rubinetto e seminandovi sclerozi non disinfettati. Si è di nuovo osservata la germinazione, sempre però in misura limitata, degli sclerozi aderenti alle pareti dei matraccini, mentre quelli galleggianti non presentavano alcun segno di germinazione, al massimo erano visibili sottile ife ialine, non riferibili a quelle degli sclerozi ma probabilmente ad altri funghi aderenti sulla loro superficie. In nessuna delle due esperienze sono apparsi, dagli sclerozi, conidiofori o conidi di *H. sigmoideum.* In base ai resultati delle esperienze suddette, appare evidente che il contatto degli sclerozi con la parete di vetro agisce quale fattore stimolante la germinazione.

Dal fatto che gli sclerozi galleggianti sull'acqua sono sollevati contro la parete dal menisco che si stabilisce per opera della tensione superficiale, è certo che l'azione preminente sulla germinabilità è esplicata da uno stimolo di natura stereotropica. Stabilito questo particolare che ci parve importante, e anche per meglio sorprendere gli sclerozi nelle varie fasi di germinazione, si è modificato la tecnica facendo germinare gli sclerozi su vetrino portaoggetti bagnato e immerso obbliquamente in un matraccino a collo largo contenente 2—3 cm di acqua. In tal caso il vetrino con sclerozi aderenti poteva essere prelevato e portato direttamente sotto il microscopio per l'osservazione senza rovinare in alcun modo la germinazione. Questa prova è stata eseguita impiegando acqua di risaia e sclerozi non disinfettati. I matraccini erano tenuti sul tavolo del laboratorio con una temperatura oscillante, tra il giorno e la notte, da 20 ° a 32 ° C. In tali condizioni gli sclerozi sono germinati con percentuale molto alta già dopo 8 giorni dalla semina, producendo solo micelio o micelio con ife portanti appressori (vedi avanti, Tav. 2, fig. 4), che verrano illustrati più avanti. Dopo circa 15 giorni dalla semina, sugli stessi vetrini erano visibili sclerozi germinanti con conidiofori portanti lateralmente e all'apice conidi di *Helminthosporium sigmoideum,* simili in tutto a quelli trovati sulle guaine delle piante di riso (vedi avanti Tav. 2, fig. 5).

Con questo risultato si confermano le ricerche del Tullis, e si conclude che lo *Sclerotium oryzae* è la forma scleroziale di *Helminthosporium sigmoideum,* come la *Leptosphaeria salvinii* è la forma ascofora.

Gli stadi di sviluppo e le diverse fasi del ciclo biologico dello *Scler. oryzae* sono rappresentati nella Tavola 1.

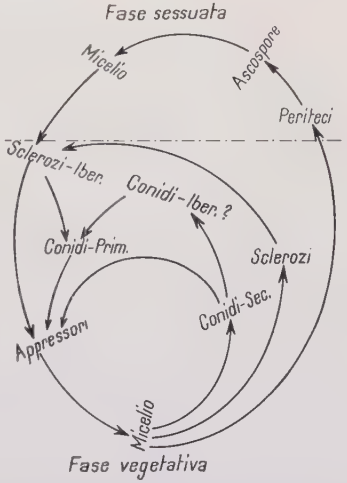


Tavola 1: Ciclo biologico del patogeno

L'inizio del ciclo si ha — presumibilmente — con gli sclerozi, e forse con qualche raro conidio sopravissuto durante l'inverno in virtù delle praticolari condizioni di umidità in cui sia venuto a trovarsi. Mentre i conidi germinano con l'apressorio e producono micelio, gli sclerozi, derivanti dalle infezioni primarie o secondarie, germinano sia producendo appressori che conidi. È improbabile che le ascopore svernino ed è molto più facile che germinino interamente in estate, effettuando infezioni secondarie. È necessario precisare che i primi sclerozi che si formano nelle guaine di riso appaiono dopo la comparsa dei conidi, e cioè nella seconda quindicina di luglio, inoltre sono localizzati esclusivamente nelle guaine più esterne e sono poco numerosi. Solo molto tardi, e specialmente in autunno, compaiono gli sclerozi nei tessuti del culmo e nel canale midollare. Molto probabilmente mentre i primi sclerozi sono derivati dall'infezione primaria, a mezzo degli sclerozi o

conidi; quelli che si formano, in grande quantità nel culmo, sono derivati da infezioni secondarie dei conidi e delle ascospore.

Dal fatto che la stragrande maggioranza degli sclerozi si forma assai tardi, dopo la mietitura del riso, crediamo poter azzardare l'ipotesi che essi abbiano origine per la maggior parte dal micelio delle ascospore e dei conidi secondari.

Il micelio del fungo ha spiccate attitudini saprofitarie e continua il suo sviluppo fino alla fine dell'autunno con formazione di sclerozi. Resterebbe da stabilire se il micelio è omotallico od eterotallico, ma con i nostri isolamenti monocitogenetici da conidi e da ascospore non siamo riusciti nell'intento.

2. Studio morfologico dei ceppi di *Sclerotium oryzae*, *Helminthosporium sigmoideum* e *Leptosphaeria Salvinii*

Ai fini di confrontare i ceppi di *S. oryzae* fra loro, con *H. sigmoideum* e la *L. salvinii,* sono stati predisposti alcuni rilievi di carattere statistico riguardanti gli sclerozi e gli organi di sporificazione, nonchè alcune osservazioni di carattere morfologico, colturale e fisiologico.

I ceppi da noi presi in esame, per le osservazioni di cui si è detto sopra, sono i seguenti, così contrassegnati:

Ceppi in vivo

1. *Helminthosporium sigmoideum:* inviatoci da E. C. TULLIS, Beaumont, Texas, USA, nel 1947. Le colture di questo ceppo giunsero però in cattivo stato e non fu possibile effettuare dei trapianti. Tuttavia si potè effettuare dei rilievi di carattere microscopico di cui diremo. Lo stesso ceppo ci è stato poi inviato dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn nel febbraio 1947.
2. *Sclerotium oryzae,* ceppo Mitra I: inviatoci nel febbraio 1947 dal Centraalbureau voor Schimmelcultures di Baarn.
3. *Sclerotium oryzae,* ceppo Mitra IV: inviatoci come sopra dal C. B. S.
4. *Sclerotium oryzae,* ceppo Nakata: inviatoci come sopra dal C. B. S.
5. *Sclerotium oryzae,* ceppo Pavia: isolato da BALDACCI (15) nel 1944 da piante di riso coltivate in risaia nelle vicinanze di Pavia, in località compresa fra due Porte e Cascinona a circa Km 6 a nord-est della città.
6. *Sclerotium oryzae,* ceppo Vercelli: isolato nel novembre 1949, da stoppie di riso raccolte in risaia da vicenda, alla Cascina Marchiazza nel comune di Rovasenda in provincia di Vercelli.
7. *Sclerotium oryzae,* ceppo Milano: isolato nel maggio 1950, da stoppie di riso raccolte in risaia da vicenda nella frazione Roncate nel basso milanese.

8. *Leptosphaeria salvinii*, ceppo A: isolato nell'agosto 1950, da periteci raccolti su piante di riso cresciute nella stessa risaia in cui si è isolato lo *S. oryzae* ceppo Vercelli 1949. Questo ceppo dà in coltura solo sclerozi.
9. *Leptosphaeria salvinii*, ceppo B: ottenuto nell'aprile 1951 da un tubo di colture del ceppo A. Dà periteci in coltura.

Ceppi d'erbario

10. *Sclerotium oryzae:* exicata dell'erbario a vetro del Laboratorio Crittogamico di Pavia: Tavole murarie esposte in occasione della mostra agricola di Torino del 1881.
11. *Sclerotium oryzae:* exicata dell'Erbarium Horti Ticinensis, collectio horti N. 425, riportato sotto la denominazione di *Helminthosporium sigmoideum* Cav., in vaginis mortuis Oryzae, Carbonara al Ticino, settembre 1888, D. F. Cavara.
12. *Sclerotium oryzae:* exicata della collezione di Briosi e Cavara 1888 N. 25 (pag. I) con l'etichetta; *Sclerotium oryzae* Catt. raccolte presso Pavia e Vercelli.

Caratteri morfologici del micelio

I caratteri riguardanti le ife miceliche possono ritenersi comuni a tutti i ceppi esaminati. Il diametro è di 2—6 μ, di colore bruno, con ife settate, frequentemente ramificate e anastomizzate. Le ife immerse nei substrati nutritivi artificiali, e talora anche quelle attraversanti i tessuti colpiti, hanno setti più ravvicinati, talora di aspetto toruloide, più o meno contorte con cellule frequentemente gibbose. Le cellule delle ife di aspetto toruloideo sono più brune delle altre, spesso si ingrossono assai assumendo una forma rotonda e che il Shaw (122) interpretò come clamidospore. Le ife rampanti sulle pareti dei recipienti di coltura sono frequentemente associate in cordoni di colore più scuro; quelle semplici terminano spesso con appressori. Sul fondo delle piastre di coltura le ife si dispongono talora in forma di disco a spirale, (abbozzi sessuati?).

Caratteri morfologici degli appressori

Le ife singole rampanti sulle pareti dei recipienti di coltura, specialmente su agar patata, terminano frequentemente con appendici nere, lobate più o meno profondamente, di forma svariatissima, spesso portati da ife sinuose (Tav. 2, fig. 6 a).

Tali appendici sono state descritte per primo da Shaw (122) in coltura, e dagli autori successivi interpretati come appressori. Anche noi li abbiamo visti, oltre che in coltura, sulle guaine e sui culmi di riso infetti sia da *S. oryzae* che da *H. sigmoideum* e *L. salvinii*.

Tali appressori hanno dimensione e forme varie, ora prossochè rotondeggianti, con lobi talora molto profondi e ben accennati; altre volte hanno forma pressocchè ovale, sempre provvisti di lobi, oppure a V o a clava. Gli

appressori completamente formati posseggono una zona più chiara (o un foro?) perfettamente circolare disposta nel mezzo o spostata verso il lobo più grosso. Da alcune osservazioni questo sembra formato dal confluire di due lobi laterali che si toccano e si sovrappongono lasciando una zona circolare vuota. Se così fosse, non vediamo il motivo di una simile apertura. Non è da escludere invece che tale zona trasparente rappresenti qualche vacuolo deputato alla secrezione di sostanze tossiche.

Gli appressori possono essere portati sia da ife semplici che da ife ramificate; specialmente nei tessuti necrosati sono facilmente visibili 3—4 o più appressori ravvicinati a guisa di placca portati da corte ife ramificatesi all' estremità (Tav. 2, fig. 6 b). Immediatamente sotto l'appressorio si dipartono nuove ife più o meno sinuose che possono di nuovo formare appressori o svilupparsi liberatamente.

L'estremità delle ife di *S. oryzae* rampanti su vetrini portaoggetto immersi in brodo patata glucosato, presentano comunemente un ingrossamento a guisa di rene o di coppa molto slargata, ialino o di color bruno molto chiaro; immediatamente al disotto di tali appendici si diparte più spesso una nuova ifa. Molto probabilmente tali corpiccioli sono da interpretarsi come abbozzi di appressori. Le ife rampanti sui vetrini suddetti, e portanti appressori tipici e maturi, rimangono molto aderenti al vetrino, tanto che una corrente debole di acqua fatta scorrere sopra non riesce ad asportarle. Un appressorio del tutto simile a quelli descritti è pure stato osservato alla estremità del corto tubo promicelico emesso da un conidio di *Helminthosporium sigmoideum* (Tav. 2, fig. 2 b).

Da quanto è stato rilevato da vari Autori e da noi, più nessun dubbio esiste sulla funzione di queste appendici (vedi pag. 285). Riteniamo utile segnalare che in una pubblicazione di CATTANEO (32), è raffigurato un gruppo di ife portanti corpiccioli neri, lobati, con un piccolo foro centrale, in tutto simili agli appressori sopra descritti (Tav. 2, fig. 7). Il CATTANEO interpreta tali appendici come spore di un nuovo micete da lui denominato *Sporotrichum angulatum.* Nella stessa pubblicazione è riportata la descrizione latina della nuova specie che trascriviamo integralmente dall'originale: Thallus aracnoideus, fuscus, effusus, floccis, repentibus, ramosis, intricatis, septalis; spores acrogenes, simplicibus, irregulariter sinuato lobatis, opacis, subnigricantibus, in stromato libere, sparsis, diam. 30 mk.

Più avanti si afferma che il micelio consta di fili tutti di eguale grandezza e sdraiati, che si ramificano e si anastomizzano in più luoghi. La stessa specie è riportata da SACCARDO nella Sylloye Fungorum (Vol. XIX—XX. Index Iconum Fungorum Vol. II, pag. 875), annoverandola fra le „Species dubia", e con il seguente giudizio: e x i c o n e g e n u s n o v u m !

Dalla descrizione del fungo data da CATTANEO riteniamo di vedere nello *Sporotrichum angulatum* nient'altro che un ceppo del fungo da noi studiato, essendo le asserite spore identificabili con gli appressori che si formano sul micelio delle diverse fasi dello *Sclerotium oryzae.*

La specie è dunque da considerare n o m e n n u l l u m.

Fig. 1

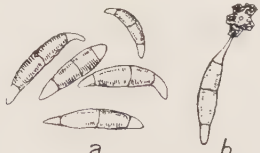


Fig. 2

Fig. 3

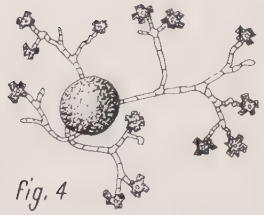


Fig. 4

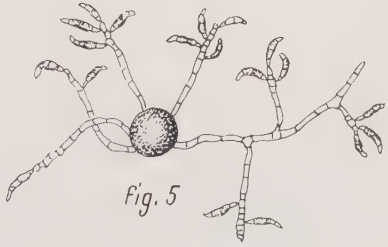


Fig. 5

Fig. 6

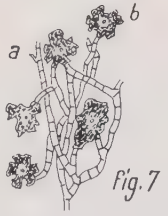


Fig. 7

Tavola 2: Figura 1: *Sclerotium oryzae:* a) sclerozi normali, b) sclerozi irregolari, da colture del ceppo Milano; Figura 2: *Helminthosporium sigmoideum:* a) conidi, b) conidio germinante; Figura 3: *Leptosphaeria salvinii:* a) periteci, b) aschi, c) ascospore, d) ascospora germinante; Figura 4: Sclerozio germinante con ife portanti appressori; Figura 5: Sclerozio germinante con conidiofori; Figura 6: Ramificazioni miceliche portanti appressori singoli, a); o riuniti in placca, b); Figura 7: *Sporothricum angulatum* Catt.: a) ife, b) spore [Fig. 3 d, e Fig. 7 ridisegnato da Cattaneo]

Caratteri morfologici degli sclerozi

Gli sclerozi hanno una forma pressochè rotondeggiante; sono frequenti anche a contorno più o meno irregolare, specialmente se cresciuti sulla superficie dei substrati artificiali (Tav. 2, fig. 1). Hanno colore nero lucente con superficie liscia o quasi e misurano da 77 a 362 μ, in coltura sono più grossi. La forma degli sclerozi è identica per tutti i ceppi; fanno leggermente eccezione quelli del ceppo N. 7 cresciuti superficialmente in coltura, i quali si presentano quasi tutti di forma ovale e talora concresciuti a due a due

attraverso la parate più ottusa per cui sembra che dello sclerozio completo manchi uno spicchio (Tav. 2, fig. 1 b).

Caratteri morfologici dei conidiofori e conidi

I conidiofori hanno la forma di un'ifa lunga 100—350 μ, di color bruno, erompenti dall'epidermide delle guaine fogliari di riso, raramente dalle foglie più basse marcescenti: sono formati da 3—6 o più cellule gibbose, più corte verso l'estremità e leggermente inbrunite. Lateralmente al conidioforo e all'apice si inseriscono 4—7 o più conidi trisettati, affusolati, con le due cellule mediane color verde oliva e quelle apicali ialine. Per lo più han forma sigmoidea, raramente diritta o ad arco. Quando sono al secco si presentano raggrinziti con leggera torsione; misurano 37—77 × 10—14 μ (Tav. 2, fig. 2).

Caratteri morfologici dei periteci, aschi e ascospore

I periteci sono leggermente più grossi degli sclerozi, misurano 257—512 × 197—452 μ; han forma subrotonda, ovale o piriforme, terminanti con un corto collo provvisto di ostiolo coperto da brevi ife miceliche. A maturità contengono 20—25 aschi clavati ripieni di ascospore (solitamente 8), (Tav. 2, fig. 3).

Gli aschi son formati da una sottile membranella ialina, talora provvista di un piccolo foro all'apice; essi misurano 82—162 × 10—19 μ. Tra gli aschi si trovano molte parafisi ialine, corte e sottili. Le ascospore misurano 32—67 × 5—10 μ, hanno estremità affusolate; sono leggermente olivacee e finemente granulose nelle cellule mediane, ialine in quelle apicali; sono piegate ad arco e più raramente a forma di ampio sigma; trisettate e leggermente strozzate al centro. In preparati vecchi le ascospore sono apparse per la maggior parte 5—6 settate.

3. Analisi biometrica

Sono stati rilevati i caratteri biometrici delle formazioni fruttifere, (periteci, aschi, ascospore, conidi e sclerozi), ponendo in confronto campioni di diversa provenienza, sia in vivo che in coltura.

I dati sono stati ottenuti misurando un sufficente numero di individui; le dimensioni sono espresse in micron e sono state ordinate in classi, più o meno ampie a seconda degli elementi misurati.

È necessario precisare che la frequenza di ciascun valore, segnata sulle curve, corrisponde alla media delle frequenze comprese nell'intervallo di classe, per cui il suo valore è puramente rappresentativo.

Nella costruzione delle curve di frequenza è stata soppressa la cifra decimale nella maggior parte dei casi, dove era possibile farlo senza alterare i risultati.

È stato pure calcolato lo scostamento quadratico medio (σ^2), l'errore probabile $\frac{\sigma^2}{n}$, e, dove è stato possibile si è eseguito il confronto statistico delle dimensioni (σ_D).

Tabella 1

Leptosphaeria salvinii Catt.

Dimensioni Periteci in vivo

Lunghezza			Larghezza		
Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli	Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli
257,5	—	2	197,5	—	4
272,5	—	1	212,5	—	7
287,5	—	5	227,5	—	6
302,5	—	15	242,5	2	15
317,5	—	9	257,5	1	20
332,5	—	15	272,5	1	22
347,5	2	10	287,5	1	14
362,5	—	15	302,5	2	22
377,5	2	25	317,5	—	17
392,5	2	19	332,5	—	17
407,5	1	12	347,5	1	14
422,5	2	9	362,5	1	3
437,5	1	8	377,5	1	6
452,5	1	10	392,5	1	2
467,5	0	5	407,5	2	4
472,5	2	7	422,5	1	2
497,5	2	6	437,5	—	—
512,5	—	2	452,5	1	—
Totale	15	175	Totale	15	175
Medie	422,5	381	Medie	361,6	295,05

Periteci: Le misure dei periteci sono state rilevate solamente nei campioni provenienti da risaie del Vercellese (ceppo 6) e da quelli ottenuti con inoculazioni artificiali, su riso in vasche, di *H. sigmoideum* (ceppo 1). Non è stato possibile poter procedere ad un confronto statistico dei due gruppi di campioni, dato l'esiguo numero di quelli del ceppo 1, in numero di 15, (confr. Tab. N. 1). Va tuttavia osservato che le dimensioni dei periteci sono molto variabili, e la curva delle frequenze, sia delle lunghezze, che delle larghezze, è molto ampia e assai dentallata. La moda è piuttosto bassa: vedi per esempio la curva delle lunghezza del ceppo 6) dove abbiamo una massima frequenza (Moda) di 25 alla classe di μ 377; o per le larghezze dello stesso ceppo dove abbiamo due mode principali, entrambe di frequenza 22, rispettivamente alle classi di μ 272,5 e μ 302,5.

Nel ceppo 1), l'ampiezza della curva è più ristretta sopratutto nelle lunghezze, che infatti hanno oscillazione da 347 a 497 μ, mentre il ceppo 6)

varia da μ 257 a 512. È però da osservare che l'esiguo numero di rilevazioni non permette di trarre conclusioni definitive.

Aschi: Per gli aschi, di cui sono state esaminate le dimensioni nei ceppi 1) e 6), non è da prendere in considerazione l'analisi statistica delle lunghezze poichè i dati relativi, esposti nella Tab. 2, non corrispondono in effetti alle reali misure degli aschi stessi. Essi infatti, nel fuoriuscire dal peritecio, tendono nella maggior parte dei casi a rompersi nella porzione inferiore, cosicchè le misure prese sono il più delle volte quelle di aschi incompleti.

Nei riguardi delle larghezze, sulle quali non hanno influito le rotture suddette, si nota una concordanza pressocchè perfetta delle curve dei due ceppi, vedi Tab. 2 e grafico N. 1.

Tabella 2

Leptosphaeria salvinii Catt.
Dimensioni Aschi in vivo[1])

Lunghezza			Larghezza		
Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli	Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli
82,5	1	6	10,625	3	—
87,5	4	14	11,875	9	—
92,5	5	8	13,125	27	11
97,5	11	16	14,375	39	41
102,5	20	8	15,625	69	80
107,5	18	30	16,875	12	17
112,5	13	16	18,125	7	6
117,5	16	25	19,375	—	1
122,5	12	12			
127,5	12	10			
132,5	12	6			
137,5	16	2			
142,5	8	3			
147,5	6	—			
152,5	9	—			
157,5	2	—			
162,5	1	—			
Totale	166	156	Totale	166	156
Medie in μ	120,2	108,75	Medie in μ	14,82	15,38
σ	18,2	14,95	σ	1,525	0,35
$\frac{\sigma^2}{n}$	1,99	1,43	$\frac{\sigma^2}{n}$	1,4	0,0007

[1]) Correzione: Grafico 1, curva 6; alla dimensione 107 μ corrisponde la frequenza 30 invece di 20.

Si nota infatti che le curve delle larghezze sono assai strette e molto campanulate con la massima frequenza corrispondente a μ 15,625 per entrambi i ceppi.

Il confronto statistico eseguito (σ_D) dà una differenza non significativa, ed è quindi da concludere per la loro probabile identità.

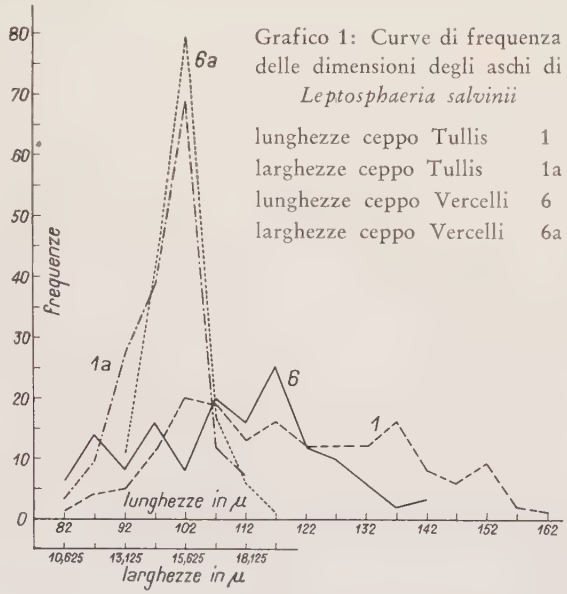


Grafico 1: Curve di frequenza delle dimensioni degli aschi di *Leptosphaeria salvinii*

lunghezze ceppo Tullis 1
larghezze ceppo Tullis 1a
lunghezze ceppo Vercelli 6
larghezze ceppo Vercelli 6a

Ascospore: Le ascospore dei medesimi ceppi, **1**) e **6**), presentano valori medi delle dimensioni molto simili fra loro; infatti abbiamo una lunghezza media per il ceppo **1**) di 48,35 μ; per il ceppo **6**) di 47,78 μ; mentre la larghezza media per il ceppo **1**) è di μ 7,22 e di 7,12 μ per il ceppo **6**). I rispettivi valori sono esposti nella Tab. 3. Il confronto statistico delle medie (σ_D) dà, come risultato tra i due ceppi, una differenza non significativa, sia per le lunghezze che per le larghezze, per cui si può

Tabella 3

Leptosphaeria salvinii Catt.

Dimensioni Ascospore in vivo[2])

Lunghezza			Larghezza		
Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli	Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli
32,5	—	1	5,5	9	13
37,5	13	21	6,5	35	94
42,5	28	48	7,5	103	144
47,5	51	81	8,5	9	12
52,5	48	72	9,5	—	0
57,5	15	30	10,5	—	2
62,5	1	11		—	—
67,5	—	1		—	—
Totale	156	265	Totale	156	265
Medie	48,35	47,78	Medie	7,22	7,12
σ	7,5	1,268	σ	0,657	0,71
$\frac{\sigma^2}{n}$	0,36	0,00604	$\frac{\sigma^2}{n}$	0,00276	0,0019

2) Correzione: Grafico 2, curva 6a; alla dimensione 7 μ corrisponde la frequenza 144 invece di 182.

quindi concludere per la loro probabile identità (vedi graf. 2).

Conidi: Le dimensioni dei conidi sono state rilevate su campioni provenienti da risaie del Vercellese ceppo 6) e da inoculazioni artificiali su riso in vasca, con *Helminthosporium sigmoideum* ceppo 1). I dati relativi sono esposti nella Tab. 4, dove è possibile osservare che i valori delle medie sono molto simili, e precisamente: lunghezza μ 57,20 e larghezza μ 11,72 nel ceppo 1), e rispettivamente μ 56,5 e 11,74 nel ceppo 6). Il confronto di media (σ_D) mostra che le differenze fra i due ceppi non sono significative, e si deve quindi concludere per la loro probabile identità (vedi anche graf. 3).

Sclerozi: Le dimensioni degli sclerozi sono state rilevate sia in vivo (su stoppie), sia in coltura. In vivo sono stati esaminati i campioni provenienti da risaie del vercellese ceppo 6), pavese ceppo 5) e milanese ceppo 7) oltre a due campioni d'erbario (ceppi 10—11). I dati relativi sono esposti nella Tab. 5, mentre le curve di frequenza sono visibili nel graf. 4.

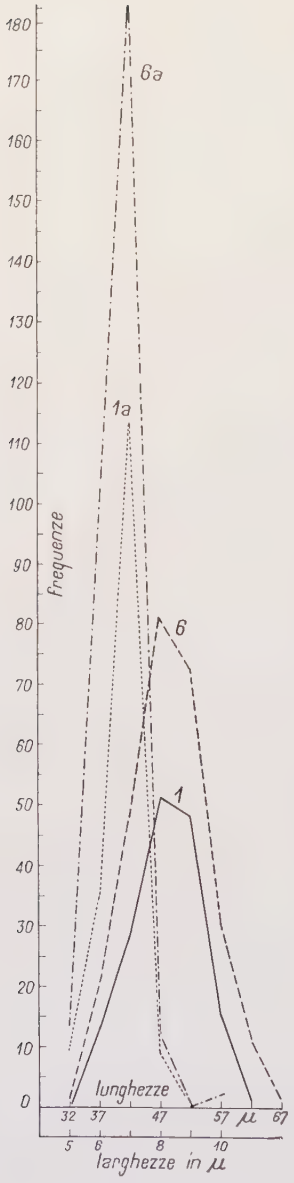


Grafico 2: Curve di frequenza delle dimensioni delle ascospore di *Leptosphaeria salvinii*

lunghezze ceppo Tullis	1
larghezze ceppo Tullis	1a
lunghezze ceppo Vercelli	6
larghezze ceppo Vercelli	6a

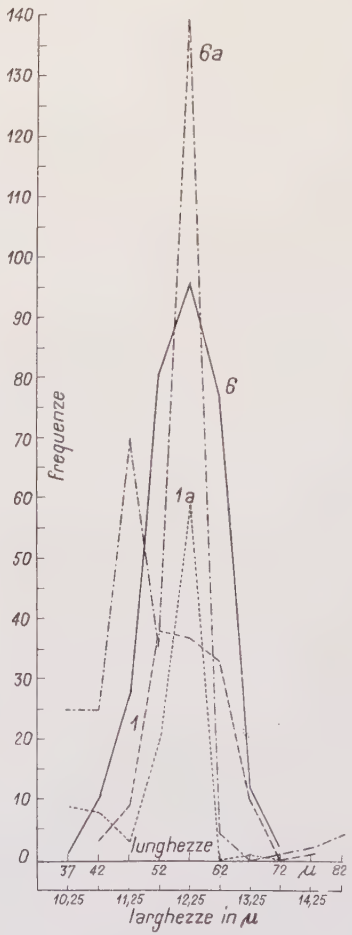


Grafico 3: Curve di frequenza delle dimensioni dei conidi di *Helminthosporium sigmoideum*

lunghezze ceppo Tullis	1
larghezze ceppo Tullis	1a
lunghezze ceppo Vercelli	6
larghezze ceppo Vercelli	6a

Tabella 4

Helminthosporium sigmoideum Cav.
Dimensioni Conidi in vivo[3])

Lunghezza			Larghezza		
Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli	Dimensioni in μ	Ceppo 1) Tullis	Ceppo 6) Vercelli
37,5	—	1	10,25	9	25
42,5	3	10	10,75	8	25
47,5	9	27	11,25	33	70
52,5	38	81	11,75	20	35
57,5	37	96	12,25	59	139
62,5	33	76	12,75	—	4
67,5	10	12	13,25	1	—
72,5	—	2	13,75	—	1
77,5	1	—	14,25	1	2
82,5	—	—	14,75	—	4
Totale	131	305	Totale	131	305
Medie	57,2	56,5	Medie	11,72	11,74
σ	6	5,85	σ	0,69	0,785
$\frac{\sigma^2}{n}$	0,274	0,112	$\frac{\sigma^2}{n}$	0,0036	0,00202

[3]) Correzione: Grafico 3, curva 1a; alla dimensione 11,25 μ corrisponde la frequenza 33 invece di 3.

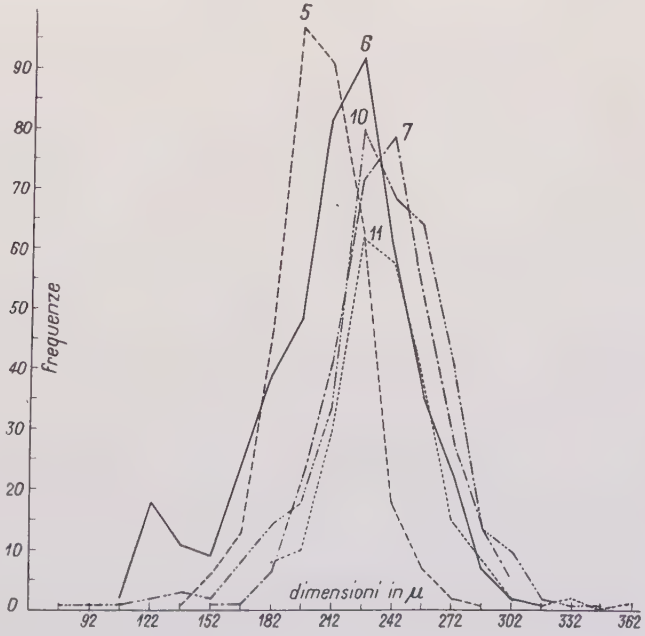


Grafico 4: Curve di frequenza delle dimensioni degli sclerozi di *Sclerotium oryzae,* in vivo (su stoppie)

ceppo Pavia	5
ceppo Vercelli	6
ceppo Cavara	11
ceppo Milano	7
ceppo Labor. Critt. Pavia	10

Gli sclerozi in coltura sono stati prelevati da colture di 40 giorni, su agar patata in tubi a becco di clarino a 21—23 ° C; per i ceppi 2), 3), 5), 6), 7), 8). I dati relativi e le curve di frequenza sono esposti nella Tab. 6 e graf. 5 rispettivamente.

Tabella 5

Sclerotium oryzae Catt.
Dimensioni Sclerozi in vivo

Diametri in μ	Ceppo 10) Lab. Gritt.	Ceppo 11) Cavara	Ceppo 6) Vercelli	Ceppo 5) Pavia	Ceppo 7) Milano
77,5	1	—	—	—	—
92,5	1	—	—	—	—
107,5	1	—	2	—	—
122,5	2	—	18	—	—
137,5	3	—	11	1	—
152,5	2	—	9	6	1
167,5	8	—	24	13	1
182,5	14	8	39	45	6
197,5	18	10	48	97	21
212,5	34	30	82	91	41
227,5	80	62	92	63	72
242,5	69	58	60	18	79
157,5	64	38	36	7	52
272,5	41	15	23	—	29
287,5	14	8	7	—	14
302,5	10	2	2	—	5
317,5	2	1	1	—	—
332,5	1	2	—	—	—
347,5	1	—	—	—	—
362,5	—	1	—	—	—
Totale	366	235	454	341	321
Medie	237,25	238,75	214,3	206,5	233,8
σ	35,55	26,7	39,15	20,85	21,45
$\frac{\sigma^2}{n}$	3,44	3,03	3,367	1,268	1,43

Sia per le dimensioni degli sclerozi in vivo che per quelli in coltura è stato fatto il confronto delle medie e nella Tab. 7 sono esposti in riassunto i rispettivi risultati. Nella tavola suddetta si è indicato col segno ++ le differenze molto significative, in cui cioè $M—M_1 > 3\ \sigma_D$ (M = media); con + le differenze significative in cui $M—M_1 > 2\ \sigma_D$; con — — le differenze non significative in cui $M—M_1 < 2\ \sigma_D$.

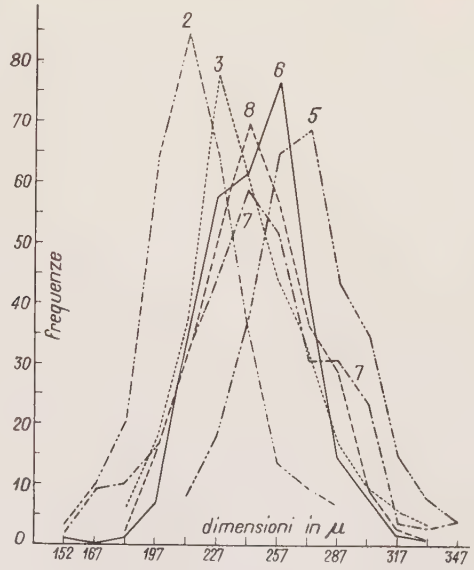


Grafico 5: Curve di frequenza delle dimensioni degli sclerozi di *Sclerotium oryzae*, in coltura

ceppo Mitra I^	2
ceppo Mitra IV^	3
ceppo Pavia	5
ceppo Milano	7
ceppo Vercelli	6
ceppo Leptosphaeria A)	8

Tabella 6

Sclerotium oryzae Catt.

Dimensioni sclerozi in coltura (agar-patata a 21°—23° C)

Diametro in μ	Ceppo 6) Vercelli	Ceppo 8) Lepto-sphaeria A	Ceppo 5) Pavia	Ceppo 7) Milano	Ceppo 2) Mitra I	Ceppo 3) Mitra IV
152,5	1	—	—	2	3	—
167,5	—	—	—	9	10	—
182,5	1	2	—	10	20	6
197,5	7	15	—	16	64	17
212,5	33	31	8	31	85	38
227,5	58	51	18	45	64	78
242,5	62	70	38	59	36	60
257,5	77	57	65	52	14	44
272,5	37	37	69	31	10	33
287,5	15	29	44	31	7	18
302,5	8	10	35	24	—	10
317,5	2	3	15	4	—	6
332,5	1	1	8	3	—	4
347,5	—	—	4	4	—	1
Totale	302	306	304	321	313	315
Medie	245,5	248,05	268,15	247,9	217,6	244,15
σ	24,90	27,57	33,3	36,15	25,5	30,6
$\frac{\sigma^2}{n}$	2,026	2,48	3,647	4,06	2,077	2,97

Tabella 7

Riassunto grafico del calcolo per σ_D delle dimensioni degli sclerozi

In vivo (su stoppie)

Ceppi	Medie					
5)	206,50					
6)	214,30	+ +				
7)	233,80	+ +	+ +			
10)	237,25	+ +	+ +	— —		
11)	238,75	+ +	+ +	+	— —	
	Ceppi:	5)	6)	7)	10)	

In coltura (su agar patata a becco di clarino a 21°—23° C)

Ceppi	Medie					
2)	217,60					
3)	244,15	+ +				
6)	245,50	+ +	— —			
7)	247,90	+ +	— —	— —		
8)	248,05	+ +	— —	— —	— —	
5)	268,15	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +
	Ceppi:	2)	3)	6)	7)	8)

In questa tavola i ceppi sono stati incolonnati secondo il valore delle medie in ordine crescente. I cinque ceppi da noi esaminati in vivo, su stoppie di riso, si sono dimostrati costituiti da tre gruppi diversi: mentre il σ_D ha dato differenze non significative per i ceppi **7**, **10**, **11**, che possiamo ritenere uguali tra loro; appaiono differenze significative tra questi e i ceppi **5** e **6** e differenze significative pure tra questi due. Lo stesso esame del σ_D, nei ceppi in coltura, dà tre gruppi diversi. Differenze non significative si hanno tra i ceppi **3**, **6**, **7**, **8**; significative sono invece le differenze tra questi ceppi e i ceppi **2** e **5** e tra questi ultimi due tra loro. Va detto che i rilievi hanno permesso di osservare la costanza delle dimensioni degli sclerozi nei vari ceppi anche dopo ripetuti trapianti in coltura. Per ciò si deve ritenere che le variazioni osservate fra i ceppi debbano attribuirsi ad una variabilità propria dei singoli ceppi e non già ad una variabilità per effetto delle coltura o da altri fattori non intrinsici.

In conclusione del nostro confronto statistico si ha:

Per quanto riguarda le dimensioni dei conidi e delle ascospore, il calcolo ha dato una differenza non significativa tra il ceppo **1** e **6** (i soli comparati).

Questi ceppi sono rispettivamente di provenienza americana e italiana (Vercelli). Dalla omogeneità biometrica degli elementi morfologici comparati dovremmo concludere per una identità dei ceppi tanto più che si tratta in un caso di cellule di origine sessuata (ascospore); tuttavia limita questa conclusione la esiguità dei confronti.

Maggiore interesse potrebbe assumere la resultanza degli esami, fatti in maggior numero, delle dimensioni degli sclerozi, tanto più che questi organi

seguono o possono seguire alla fase sessuata. Tuttavia non ci è stato possibile confrontare il ceppo 1) (americano) con i ceppi di nostro isolamento. Ciò limita ancora una volta le nostre conclusioni. Se si mettono a confronto i resultati dell'analisi statistica (σ_D) delle dimensioni degli sclerozi in vivo e in coltura, i ceppi comparati presentano i seguenti raggruppamenti:

	Ceppi	
	in vivo	in coltura
Differenza di significatività	5, 6	2, 5
Uguaglianza di significatività	7, 10, 11	3, 6, 7, 8

Si vede subito che mentre il ceppo 5 mantiene la differenzazione con gli altri nel confronto delle dimensioni degli sclerozi sia in vivo che in coltura, i ceppi 6 e 7 diversificano in vivo per questo carattere e sono identici in coltura per lo stesso.

Nessuna altra considerazione può farsi circa le diverse provenienze: i ceppi 2 e 3 sono d'origine giapponese; gli altri isolati in Italia. Limitiamo pertanto la discussione al comportamento eterogeneo dei ceppi 6 e 7.

Come si può spiegare la eterogenità in vivo, cioè in risaia, dei ceppi 6 e 7, quando questa eterogenità (dimensione degli sclerozi) si perde in coltura?

Si può ammettere facilmente in via di ipotesi che le differenze in vivo (in risaia) siano la conseguenza dei fatti sessuati che si hanno con la formazione delle ascospore: si è visto che si hanno sclerozi originati dal micelio delle ascospore e sclerozi originati dal micelio di conidi o di sclerozi. Con la fase ascofora (sessuata) durante l'estate potrebbe avere origine una formazione di ceppi o linee mutate. Ciò è ammissibile sulla base delle conoscenze micologiche attuali. La nostra specie avrebbe in altre parole una costituzione genetica complessa dando luogo a ceppi o linee a seguito della generazione sessuata estiva. Si può così osservare che il ceppo 6 è stato isolato prima della formazione della fase sessuata e il ceppo 7 è stato isolato invece (in altro ambiente) dopo la fase sessuata. Tutto ciò può valere per le differenze osservate in vivo, ma non vale per l'omogeneità osservata in coltura.

Si noti d'altro canto, che la stessa omogeneità in coltura si osserva tra i ceppi 6 e 8 isolati nello stesso ambiente (risaia) prima e dopo rispettivamente la fase sessuata.

Sembrerebbe di poter concludere che la messa in coltura di uno o più sclerozi presi „a caso" dall'ambiente naturale non è in grado di permettere il riconoscimento dei vari ceppi esistenti. In natura nella risaia si avrebbe in altri termini la permanenza dei ceppi (popolazione) preesistenti o mutati a seguito della riproduzione sessuata e la loro separazione non potrebbe essere effettuata che dalla messa in coltura di un „grande numero" di sclerozi: cosa che non si realizza nel nostro caso.

Il non permanere delle differenze biometriche in vivo e in coltura corrisponderebbe quindi solo al fatto causale di aver portato in coltura sempre lo stesso ceppo, e non il ceppo mutato al quale si debbono le differenze osservate in vivo.

4. Studio colturale dei ceppi

I ceppi elencati sopra sono stati coltivati su più sustrati al fine di metterne in evidenza le differenze rilevate biometricamente e morfologicamente e seguirne il comportamento di ciascuno, anche in relazione alla produzione di sclerozi e di spore.

Nei primi giorni dopo la semina, tutti i ceppi sono apparsi pressochè identici. Caratteristica comune è il micelio strisciante, consistente nel mantenersi addossato al subtrato per un buon tratto attorno al punto d'inoculo, e sopraelevarsi poi nell'aria. Anche l'aspetto del micelio aereo nei primi giorni di formazione è per tutti i ceppi, filamentoso, con ife leggermente brune, quasi ialine. Col tempo il micelio aereo si fa più bruno e cambia di aspetto a seconda dei ceppi.

Comune a tutti i ceppi, ma più o meno accentuato, è la formazione di cordoni di tipo rizomorfo, scuri, rampanti sulle pareti di vetro dei recipienti di coltura; anche le ife semplici sono rampanti e dopo circa 15—20 giorni producono appressori. BALDACCI (inedito), dal ceppo 5) ha ottenuto la formazione di cordoni rizomorfici bianco-rosati coltivandolo su acqua-glucosata. Micelio aereo, grigio-rosato o bianco-rosato, è stato pure da me ottenuto saltuariamente da tutti i ceppi in istudio coltivati su agar patata glucosato e, per il ceppo 6), anche su brodo patata glucosato. Il micelio rosato trapiantato non manteneva sempre la caratteristica primitiva, ma dava indifferentemente micelio rosato o micelio normale.

Molto probabilmente simile comportamento è in relazione a qualche fattore nutritivo che ha azione diversa sui vari ceppi. Altra caratteristica peculiare è stata la comparsa di sclerozi rossi, in tubi di agar Czapek, dal ceppo 6) quando inquinato con batteri.

Comune a tutti i ceppi è l'aspetto del micelio profondo, il quale è di solito costituito da ife più brune di quelle aeree e con aspetto diverso. A circa un millimetro di profondità nell'agar, alcune ife del micelio assumono aspetto toruloide a tratti più o meno ampi, sono sinuose aggravigliate e colorate quasi in nero, per cui sotto la superficie dell'agar appaiono masserelle miceliche scure più o meno grandi. Le cellule di tali ife col tempo si ingrandiscono notevolmente, si fanno rotondeggianti, di un colore nero e potrebbero interpretarsi analoghe alle clamidospore descritte da SHAW (122). Nei riguardi della colorazione del substrato è da notare che l'agar patata delle colture vecchie assume una colorazione nero ardesia sfumata verso il bluastro in profondità ad eccezione dei ceppi 2), 3), 9). I sustrati di coltura usati sono stati diversi, (carota, pepto-glucosato, ciliegia, paglia di riso, acqua pepto-glucosata), ma riportiamo soltanto le descrizioni su agar patata.

a) *Sclerotium oryzae*, ceppo Vercelli (6): Sviluppo del micelio aereo buono, di aspetto cotonoso, dapprima quasi ialino, poi molto imbrunito e color grigio-cenere. Ife striscianti e rampanti sulle pareti con frequenti cordoni rizomorfici, corti, grigio-ardesia. Dopo 7 giorni forma i primi abbozzi di sclerozi, in forma di piccole masserelle bianche,

addossate alle pareti, poi anche sulla superficie dell'agar; dopo altri 3 giorni circa, appaiono gli sclerozi, da prima in superfice, poi molto numerosi a poca profondità nell'agar, rari quelli molto approfonditi. Gli sclerozi immersi sono perfettamente sferici mentre quelli aerei sono talora ovali o ellittici o irregolari. Il micelio immerso è color bruno scuro, poi nero ardesia; ife con cellule più corte, talora sinuose e gibbose, che frequentemente si aggrovigliano, senza fondersi formando delle masserelle assai più scure che man mano si ingrandiscono; talune ife assumono aspetto marcatamente toruloide, con cellule molto imbrunite, rotondeggianti e assai grosse: forse sono simili alle clamidospore descritte da Shaw (122).

b) *Leptosphaeria salvinii,* ceppo A (8): Sviluppo buono come lo *S. oryzae* ceppo Vercelli, col quale ha in comune i caratteri del micelio aereo e di quello sommerso. Produce sclerozi dopo 12 giorni dell'inoculazione. Come per il ceppo precedente non forma periteci o conidi.

c) *Leptosphaeria salvinii,* ceppo B (9): Sviluppo del micelio aereo buono, di aspetto filamentoso e poi fioccoso, color bianco che poi vira al bianco-isabella, strisciante e rampante, radi cordoni rizomorfici bianco-grigiastri. Dopo circa 15 giorni dalla semina appaiono moltissimi, piccoli abbozzi di sclerozi che non progrediscono nello sviluppo; solo dopo circa 30 giorni appaiono radi sclerozi localizzati alle estremità del becco di agar. Micelio sommerso leggermente bruno con scarse masserelle di ife toruloidi e gibbose poco imbrunite. Oltre a radi sclerozi produce pure periteci (non sempre), ma nessun conidio.

d) *Sclerotium oryzae,* ceppo Pavia (5): Sviluppo del micelio aereo molto abbondante, grigio-olivaceo, peloso; strisciante, molti cordoni rizomorfici bruno scuri rampanti sulle pareti. Micelio profondo con masserelle di ife toruloidi scarsamente sviluppate per cui il substrato appare poco imbrunito. Produce molti sclerozi sia aerei che sommersi. Non forma periteci o conidi.

e) *Sclerotium oryzae,* ceppo Milano (7): Sviluppo del micelio aereo piuttosto scarso con ife corte e sottili, simili a fine lanuggine, color bruno-grigiastro poi cenerognolo, strisciante e rampante, forma cordoni rizomorfici più scuri. Micelio sommerso molto abbondante con molte masserelle scure di ife toruloidi per cui il sustrato appare nero ardesia a poca profondità e poi sfumato verso il bluastro. Sclerozi molto numerosi, sia aerei che sommersi. Sulla superficie dell'agar sono frequenti sclerozi irregolari, piriformi, ovali, elittici; pure frequente è il concrescimento di due sclerozi ovali che sono fusi nella parte più ottusa mentre le due estremità più affusolate sono separate (vedi Tav. 1, Fig. 1 b). Non forma periteci o conidi.

f) *Sclerotium oryzae,* ceppo Mitra I (2): Sviluppo buono del micelio aereo, bianco, poi grigio-olivaceo, cotonoso, strisciante, rampante, forma cordoni rizomorfici leggermente bruni. Micelio sommerso con masserelle toruloidi poco sviluppate e leggermente imbrunite. Forma

pochi sclerozi in superfice ma molti immersi a poca profondità. Non dà periteci o conidi.

g) *Sclerotium oryzae*, ceppo Mitra IV (3): Sviluppo abbondante del micelio aereo che è cotosono-peloso, bianco e poi bianco-grigiastro, strisciante e rampante, forma molti cordoni rizomorfici bruni. Micelio sommerso con poche masserelle di ife toruloidi brune. Forma sclerozi poco abbondanti. Non forma periteci o conidi.

h) *Helminthosporium sigmoideum*, ceppo Tullis CBS (1): Sviluppo da prima mediocre, poi abbondante, micelio cotonoso, grigio olivaceo, micelio profondo nerastro. Non forma conidi, nè periteci.

5. Prove di patogenicitá e riproduzione della malattia

Sono state eseguite, sia su piante allevate in vasche di cemento riempite di terra, sia in tubo da saggio su piante cresciute sterilmente su agar Czapek. Tali prove sono state eseguite al fine di controllare il modo di infezione del fungo, l'evoluzione della malattia nel tempo, la formazione di appressori, dei conidi e dei periteci.

Non è necessario esporre dettagliatamente le modalità e i risultati delle prove di infezione, eseguite in tubo su piantine sterili, in quanto la tecnica e i risultati sono identici a quelli descritti da BALDACCI e CIFERRI (16), per altri ceppi di *Sclerotium oryzae*. Mi limiterò a rilevare alcune particolarità che si sono messe in evidenza durante la prova.

Dopo circa 20 giorni, dall'inoculazione, le piante erano morte; fin dai primi stadi dell'infezione erano visibili appressori sull'epidermide delle guaine, in corrispondenza delle macchie determinate dalla penetrazione del micelio. Anche dopo vari giorni dalla morte delle piante non si è potuto rilevare la formazione di conidi o periteci. Evidentemente per il formarsi di tali organi è necessaria l'esistenza di altri fattori, non esclusa una forte umidità che mancava nelle nostre condizioni.

Una serie di prove è stata condotta seminando riso in vasche di cemento della dimensione di cm 60 × 32 e variamente infettate. Sono state usate otto vasche riempite con $^2/_3$ di terra comune e per l'altro terzo con terra setacciata. In ogni vasca sono stati fatti 3 reparti intercomunicanti e seminati rispettivamente con razze di riso Pierrot proveniente dalla S.A.P.R.I. di Vercelli, Pierrot proveniente da un campo infetto e Vialone. Le vasche sono state infettate:

a) con sclerozi provenienti da colture del ceppo **6**;
b) come sopra del ceppo **5**;
c) come sopra con ceppo **1**;
d) con stoppie tritate, contenenti sclerozi del ceppo **6**;
e) con moltissimi sclerozi del ceppo **6** isolati dalle stoppie;
f) stratificando nella vasca circa 10 cm di terra di risaia infetta;
g) controllo.

Le osservazioni sono state eseguite in parallelo con quelle compiute in un campo di mia conduzione, coltivato con riso, razza Pierrot, e da molti anni infetto da *S. oryzae*.

I risultati delle osservazioni eseguite sulle piante delle vasche infettate artificialmente sono stati identici a quelli osservati in campo. In ambedue i casi si è avuto la comparsa di macchie nere sulle guaine e successivamente la produzione di conidi di *H. sigmoideum;* nonche di sclerozi e periteci. Le piante hanno accusato allettamento e pannocchie scatolate.

L'intensità dell'attacco delle piantine è risultato, in ordine decrescente per i vari inoculi; Vasca con *H. sigmoideum* ceppo 1); vasca con molti sclerozi del ceppo 6) isolati da stoppie infette; vasca con stoppie tritate contenenti sclerozi del ceppo 6); vasca con terreno di risaia infetta; vasca con sclerozi di coltura del ceppo 6); vasca con sclerozi di coltura del ceppo 5).

Dalle osservazioni fatte si può arguire che l'entità della infezione dipende dal ceppo di inoculo, e per lo stesso ceppo, dalla quantità di inoculo. Quest'ultima osservazione è stata successivamente confermata in osservazioni di laboratorio riguardanti la germinabilità degli sclerozi; si è visto che più sclerozi ravvicinati germinano più rapidamente e in percentuale maggiore di quelli singoli.

Prove comparative di infezione sono pure state eseguite in vasche su 10 varietà di riso onde accertare la loro suscettibilità allo *S. oryzae*. I risultati saranno riferiti al capitolo 9).

6. Sintomatologia della alterazione

I sintomi tipici della malattia sono visibili sulle piantine di riso appena emerse dall'acqua, a circa 20 giorni dalla semina cioè verso il 10—15 maggio. Le giovani piantine presentano, da prima, macchie brunastre per lo più di forma rettangolare, che col tempo si ingrandiscono ed assumono un colore nero vellutato. Il contorno delle macchie è, per lo più, ben delimitato nei primi stadi dello sviluppo. Esse tendono ad estendersi maggiormente in lunghezza, tra i fasci fibrovascolari; assumono in generale la tipica forma a canne d'organo. Talora il contorno delle macchie non è ben marcato ma sfumato in un alone clorotico, o bruno chiaro, che però non si confonde eccessivamente con la macchia centrale. Nei primi stadi della loro formazione, le macchie si trovano localizzate più frequentemente sulla costola delle guaine, ma sono comunissime anche nel mezzo della guaina stessa (Tav. 3—4). Col progredire dello sviluppo del fungo nell'interno dei tessuti, le macchie necrotiche man mano si estendono sotto e sopra il livello dell'acqua, fino ad interessare tutta la guaina, che ben presto muore, (Tav. 5, 6, 7).

In tal caso anche le foglie basali ingialliscono e muoiono assumendo una colorazione marrone o rosso-marrone per cui i campi molto colpiti dalla malattia sono facilmente distinguibili per tale aspetto. I tessuti necrosati, che per tutto il mese di maggio e giugno interessano solo le guaine più esterne (Tav. 8), in seguito si estendono anche alle guaine interne di nuova formazione per raggiungere il culmo centrale verso la fine di luglio o la metà di agosto (Tav. 9).

Tavola 3

Tavola 4

Tavola 5

Tavola 6

Tavola 3: Sintomi iniziali della malattia (piante raccolte verso la fine di maggio

Tavola 4: Nuova serie di infezioni localizzate al livello dell'acqua (piante raccolte verso la metà di giugno)

Tavola 5: Sviluppo successivo della necrosi

Tavola 6: Stadio avanzato della necrosi, i tessuti delle guaine sono in via di disfacimento (piante raccolte a meta luglio)

Tavola 7: Piante molto colpite in cui la necrosi si è notevolmente estesa; le guaine basali sono oramai completamente dissolte (piante raccolte dopo la metà di agosto)

Tavola 8: Primi stadi della malattia: la necrosi è limitata alle guaine esterne

Tavola 9: Successiva invasione dei tessuti interni da parte del fungo

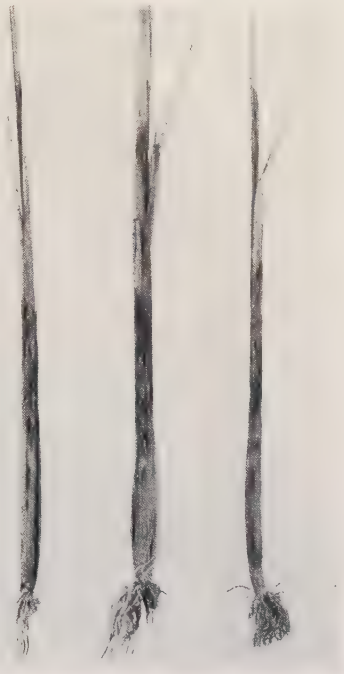


Tavola 7

Tavola 8

Tavola 9

Nei primi giorni della comparsa della malattia le piante colpite sono piuttosto scarse; in seguito si fanno sempre più numerose, ed aumentano pure le macchie su ogni pianta. Col sopraggiungere dei forti calori estivi, che innalzano notevolmente la temperatura dell'acqua delle risaie, fino a oltre 35 ° C, e cioè dopo la prima quindicina di giugno, nei campi molto infettati la malattia si generalizza a quasi tutte le piante.

Tale seconda serie di infezioni si manifesta rigorosamente al livello dell'acqua (Tav. 4), e, poichè in quel periodo l'altezza dell'acqua nella risaia è maggiore, le nuove macchie vengono a trovarsi a circa 10—15 cm dal colletto.

Anche i nuovi germogli che, dopo la metà di giugno, si formano nell'accestimento, vengono attaccati; però si nota facilmente che le piante centrali del cespo di riso presentano una zona necrosata molto più estesa delle altre che le attorniano. Il fatto deve essere attribuito a due cause coesistenti: l'infezione precoce delle piante sviluppatesi dal seme, e la maggior quantità di sclerozi che si accumulano al centro dei cespi, portati dal moto ondoso dell' acqua e trattenuti dai menischi che si stabiliscono tra pianta e pianta. Dopo questa serie di infezioni, la necrosi aumenta considerevolmente in estensione e, dal livello dell'acqua di irrigazione, si spinge in alto fino al nodo precedente a quello dell'inserzione della pannocchia, mentre in basso raggiunge le radici.

Naturalmente l'estensione dei tessuti necrotici è in relazione all'epoca dell' infezione, e sopratutto alla quantità di micelio penetrato nei tessuti, potendosi avere piante completamente necrosate, e piante con macchie poco estese e localizzate all'internodo lambito dall'acqua.

Verso la fine di luglio sono poi visibili nell'interno delle guaine, e anche nel culmo, ad incominciare dai nodi, numerosi piccoli sclerozi neri, rotondi e assai duri. In settembre si possono trovare piante contenenti decine di migliaia di sclerozi, ma sono pure frequenti piante, presentanti i sintomi della malattia, con radi o nessun sclerozi nell'interno dei tessuti.

Le piante colpite dalla malattia vegetano normalmente e presentano sintomi di sofferenza solo verso la fine di agosto, o i primi di settembre, limitatamente a quelle molto invase da sclerozi; le altre si comportano pressochè normalmente. In tale periodo le piante più precocemente o più intensamente colpite, che come abbiamo visto sono quelle centrali dei cespi, si presentano di un colore più scuro delle altre. In conseguenza dell'indebolimento della base del culmo, e per l'appesantimento della pannocchia in via di maturazione, le piante molto colpite si piegano verso terra disordinatamente in tutte le direzioni. Qualora sopraggiungessero temporali o anche leggere pioggie accompagnate da vento si ha allettamento anche delle piante poco colpite. La pannocchia, nei casi gravi, è molto scatolata per sopraggiunta sterilità di fiori, mentre le cariossidi sono leggere per incompleta maturazione. Caratteristica peculiare è pure l'accelerata maturazione per la morte precoce delle piante molto invase dal micelio fino alle radici, dove non abbiamo per altro notato finora la presenza di sclerozi. Le piante colpite hanno tessuti molli, spugnosi, e nel tentativo di estirparle si rompono al colletto. Contrariamente

a quanto è stato osservato da CATTANEO (31) in Italia, da PARK (94—96) a Ceylon, da BUTLER (29) in India, non mi è stato possibile osservare la formazione dei germogli secondari dai nodi superiori al colletto (ramificazione). Anche MIYAKE (86) in Giappone non osservò tale sintomo ed è perciò probabile che il fatto sia in relazione ad altri fattori e sopratutto alle razze di riso.

Anche la presenza di sclerozi sulle cariossidi, sotto le glumelle, asserita da SMALL (123—124) non è stata finora notata da noi.

7. Patogenesi e patografia

Seguendo l'opinione di vari autori CATTANEO (31), BUTLER (29), MIYAKE (86), TULLIS (136—140), CRALLEY (37—41), possiamo ritenere che l'infezione sia caratterizzata da tre fasi successive. Il primo stadio è rappresentato dallo sviluppo di piccole macchie nere sui tessuti epidermici delle guaine al livello dell'acqua, localizzate su poche piantine e in piccolo numero; il secondo stadio consiste nell'invasione dei tessuti delle guaine fino al culmo, con la formazione degli sclerozi, conidi e ascospore, mentre il numero delle piante colpite aumenta considerevolmente; nel terzo ed ultimo stadio avviene l'invasione dei tessuti del culmo con la formazione di grandi quantità di sclerozi nelle guaine, nel culmo e nella cavità midollare, provocando il collasso dei culmi.

Al fine di mettere in chiaro l'aspetto più importante della patogenesi, cioè l'inizio dell'infezione, abbiamo rivolto l'attenzione agli appressori per scoprire quale fosse la loro specifica funzione.

Abbiamo visto che i conidi di *H. sigmoideum* germinano sulle guaine del riso con un promicelio portante l'appressorio; ma come ebbe a notare già lo SHAW (122), anche le estrimità di molte ife miceliche (in coltura) possono produrre appressori del tutto simili, conferendo la possibilità al semplice micelio di stabilire l'infezione. Gli sclerozi germinano producendo ife portanti appendici simili agli appressori (vedi pag. 263) che aderiscono fortemente ai corpi coi quali vengono in contatto, tanto che un sottile velo di acqua fatta scorrere su di essi è incapace di asportali. Appressori sono stati trovati presenti sulle macchie necrotiche delle guaine fin dai primi stadi del loro sviluppo. Gli appressori sono pure visibili nell'interno dei tessuti invasi dal micelio, sulla epidermide della guaine interne delle piante di riso, e in grande numero sull'epidermide del culmo. Nell'interno dei tessuti sono pure visibili placche costituite da 2—5 o più appressori riuniti e portati da ife ramificate a guisa di pennello. Da tutto ciò appare indubbia la funzione di questi organi che è quella di permettere la penetrazione del micelio nei tessuti secondo un processo assai comune nei patogeni fungini. Il micelio inter- e intracellulare passa da una guaina all'altra e penetra nel culmo. Si è notato che le cellule vicine agli appressori sono notevolmente imbrunite e probabilmente distrutte. È probabile anche una azione necrosante o litica sulle pareti per l'azione di sostanze tossiche o enzimatiche. La funzione degli appressori sarebbe perciò duplice, infettante e necrosante ad un tempo.

L'invasione passando sul culmo provoca la morte dei tessuti parenchimatici previo scollamento delle membrane pectiche cellulari. Il culmo nelle piante molto colpite perde la consistenza iniziale, si fa molle, spugnoso e facilmente pieghevole; su piante molto colpite il culmo appare, molto spesso, ridotto alla sola epidermide esterna e ai fasci fibravascolari completamente isolati e circondati soltanto da una massa enorme di sclerozi.

8. Epifitologia

La malattia ha carattere endemico data la grande facilità di diffusione a mezzo dell'acqua, ma la sua intensità può considerarsi lieve, e grave solo eccezionalmente. In varie osservazioni mi è infatti capitato spesso di trovare risaie molto infette accanto ad altre quasi immuni, ma in ogni caso, le risaie che fruiscono di acqua di colatura di risaie infettate nella stessa zona presentano piante malate.

Fatto questo facilmente spiegabile quando si consideri l'enorme quantità di inoculo galleggiante sull'acqua e che può facilmente essere portato alle risaie intercommunicanti. Per renderci meglio conto delle possibilità di disseminazione eseguiamo un breve computo della quantità di inoculo che si produce in una risaia molto infettata dallo *S. oryzae*. Nelle stoppie rimaste in campo dopo il taglio del riso e raccolte in novembre si sono contati in media 200 sclerozi per cm di stoppia comprendente culmo e guaine; considerate le stoppie alte circa 20 cm, risultano circa 4000 sclerozi per stoppia. Poichè per ogni mq di risaia crescono circa 400 o più piante, risultano più di un milione e mezzo di sclerozi svernanti per ogni mq di terreno. Ogni sclerozio germina producendo in media una ventina di conidi che alla loro volta costituiscono altri organi di infezione.

È vero che con le arature moltissimi sclerozi vengono sotterrati profondamente nel terreno e quindi a primavera sono impossibilitati di portarsi a galla sull'acqua della nuova risaia, ma poichè nel terreno molti si mantengono germinabili per vari anni, ne risulta pur sempre un inoculo tale da assicurare largamente la disseminazione. In talune risaie, molto colpite, è visibile nel mese di maggio e giugno una vera coltre di sclerozi galleggianti che si accumulano di preferenza contro gli argini dalla parte opposta alla bocchetta dell' acqua d'irrigazione.

Si comprende da tutto ciò la diffusione della malattia in quelle risaie stabili o semistabili, a causa della riserva di inoculo allo stato potenziale.

Anche gli uccelli acquatici, palmipedi e trampolieri, contribuiscono in misura più limitata, alla diffusione della malattia, trasportando sclerozi e conidi; la loro opera è forse importante ai fini della ibridazione dei diversi ceppi. In America Settentrionale è stato notato da YOUNG (152—153) che un veicolo di infezione può essere rappresentato da una razza spontanea di riso a cariossidi rosse, che si infetta molto facilmente, che vegeta bene anche all' asciutto e che perciò conserva con facilità i germi dell'infezione anche durante la sospensione della coltura del riso. In Italia non ci risulta che le varietà di riso a cariossidi rosse, il cosidetto „riso crodo", sia un veicolo pericoloso

dell'infezione. Bagnicourt (27—28) asserisce che la malattia si diffonde pure col seme che può portare conidi di *H. sigmoideum;* finora non ho ancora riscontrato questo fatto e sembra che tale eventualità non si verifichi nelle nostre colture di riso. Ci sembra invece opportuno richiamare l'attenzione sui conidi svernanti sulle stoppie e nel suolo, come agenti di disseminazione. Non tutti i conidi prodotti sulle guaine in estate germinano, come si è potuto constatare mantenendoli in acqua per molto tempo ed osservando periodicamente la sospensione: in ogni osservazione si son sempre trovati conidi non germinati. Avendo constatato che i conidi conservati su stoppie in laboratorio sono germinati anche dopo un anno, seppure in percentuale limitatissima, è da ritenere che ciò succeda anche per quelli svernati in campo.

Nei riguardi delle ascospore la germinabilità è elevatissima appena raggiunta la maturità dei periteci. Alla fine di agosto o al massimo nella prima settimana di settembre tutti i periteci sono indistintamente vuoti; perciò è poco probabile che essi siano organi di ibernamento. La vitalità degli sclerozi, secondo l'opinione di quasi tutti gli studiosi è assai lunga, ma l'umidità e l'aerazione ne favoriscono senza dubbio la distruzione. Da parte nostra si è osservato che un campo molto infetto da sclerozi, e riseminato a riso dopo quattro anni di avvicendamento con altre colture, ha dato origine a piante presentanti i sintomi tipici della malattia, e che sclerozi conservati su stoppie all'asciutto per 7 anni, hanno dato ancora una germinabilità di circa 2 %. Appare indubbio perciò che il numero di sclerozi che rimane vitale nel suolo è sufficente a perpetuare l'infezione.

La densità delle piante è favorevole all'insorgere e al diffondersi della malattia, sia perchè in tal modo le piante posseggono tessuti più lassi, meno consistenti, sia perchè si ha un maggior accumulo di sclerozi contro le piantine, favorito dall'insorgere dei vari menischi tra pianta e pianta. Con la densità delle piante il micelio può facilmente passare da una pianta all'altra; si ha pure un aumento dell'umidità dell'aria e la formazione dei conidi secondari, come è già stato detto. Abbiamo notato che le piante centrali dei cespi di riso molto fitti sono maggiormente colpiti dalla malattia e sono le prime a presentare i conidi sulle guaine. Secondo Farneti (55) e Paracer (93) l'acqua stagnante favorisce l'insorgere della malattia; anche noi siamo dello stesso parere per il fatto che senza ricambio di acqua in essa si accumulano varie sostanza cataboliche di animali acquatici e piante, prodotti di putrefazione delle stoppie, ecc. che stimolano la germinabilità degli sclerozi, come è risultato dalle prove di laboratorio.

La maggior suscettibilità delle piante di riso durante il periodo dell' accestimento notata da Martyn (80—81) è da attribuire, secondo il nostro parere, all'innalzamento della temperatura dell'aria in tale periodo. Non è però da escludere che durante il periodo dell'accestimento le piante si trovino in uno stato di maggior recettività.

La ricchezza o meno del terreno in elementi fertilizzanti e la natura del terreno giuocano un ruolo importante nel favorire la malattia. In generale la ricchezza del terreno in sostanze organiche e le eccessive concimazioni azotate la favoriscono, sia perchè le sostanza organiche stimolano la germinazione

degli sclerozi, sia perchè le pareti cellulari delle piante sviluppate in queste condizioni sono meno ricche di cellulosa. BOURIQUET (19—20) asserisce per il Madagascar che la concimazione letamica ostacola la malattia; ma ciò deve riferirsi a condizioni peculiari.

9. Danni e metodi di lotta

La malattia è favorita, come abbiamo visto, da una grande quantità di inoculo, che a sua volta è in relazione alla recettività delle razze coltivate; perciò i danni appaiono dopo la prolungata coltura di razze di riso suscettibili. Nei casi più gravi finora riscontrati, che del resto sono rari, si può avere una diminuzione del 10—15 % in peso del raccolto, esclusi i danni indiretti.

In generale la coltura del riso in Italia subisce danni di lieve entità ad opera dello *Sclerotium oryzae*. I danni diretti consistono in una incompleta granitura delle cariossidi che rimangono striminzite a causa della morte precoce delle piante; la pannocchia risulta inoltre molto scatolata per opera dei frequenti aborti fiorali.

Il riso ottenuto da campi infetti dà bassa resa alla pilatura; per di più il riso lavorato è di qualità scadente essendo assai frequente la cosidetta „grana verde" dovuta a parziale maturazione. Assai gravi sono i danni indiretti derivati dall'allettamento che talora assume proporzioni considerevoli. L'allettamento non si ha sempre ed abbiamo visto campi di riso molto attaccati dallo *Sclerotium* senza allettarsi; ma se le pioggie violente o accompagnate da vento si sovrappongono alla malattia si ha un forte allettamento precoce che distrugge la maggior parte del prodotto. Le piante più spesso, a causa della mancanza di regidità dei tessuti basali del culmo, si piegano disordinatamente in tutte le direzioni senza, talvolta, toccare terra; in questo caso pur accusando un peso inferiore, le pannocchie riescono a maturare.

Bisogna inoltre considerare che in caso di allettamento, parziale o totale, si ha una notevole perdita di tempo durante la mietitura, sia perchè i culmi risultano a terra, sia anche perchè essendo le piante morte e con tessuti spugnosi è richiesto uno sforzo maggiore per il taglio del mannello.

Nuovi danni si hanno pure durante la trebbiatura perchè le piante infette, fornite di tessuti lassi, facilmente pieghevoli, si avvolgono facilmente attorno al battitore, costringendo a frequenti fermate ed impedendo la sgranatura completa delle pannocchie. Da quanto è esposto si comprende come nei casi di forti attacchi della malattia seguiti da allettamento i danni possono raggiungere cifre considerevoli da annullare quasi o forse superare il valore del prodotto. Fuori d'Italia, in altre condizioni di coltura, si lamentano danni molto più frequenti e più gravi.

Tra le pratiche di lotta anticamente consigliate è da annoverare l'abbruciamento delle stoppie, la quale è senza dubbio efficace qualora si riuscisse a realizzare integralmente, in quanto libererebbe la risaia dell'imponente numero di sclerozi alberganti nelle stoppie. Purtroppo in risaia sono rari i

casi in cui si può ottenere un abbruciamento totale per il fatto che le stoppie non bruciano mai completamente; in ogni caso rimarrebbero sempre dei mozziconi, raso terra, che perpetuerebbero l'infezione.

Le asciutte ed il rinnovo frequente dell'acqua nella risaia sono da consigliare perchè si favorisce l'irrobustimento delle piantine e lo scarico degli sclerozi galleggianti, dei conidi e delle ascospore, sottraendoli alla possibilità di infezione. Un inconveniente derivato da tale pratica è dovuto alla frequente immissione nella risaia di acqua fredda che può far ritardare la maturazione del riso, ma vi si può ovviare in parte con la costruzione di caldane per il preriscaldamento dell'acqua. Buona avvertenza è quella di non usare acque di scarico, o di colatura di risaie infette, onde impedire l'immissione di una notevole quantità di inoculo.

Nelle concimazioni non conviene abbondare in concimi organici e azotati, ma piuttosto impiegare dosi cospicue di concimi fosfatici e potassici che favoriscono l'irrobustimento delle piante. Possibilmente le concimazioni debbono essere bilanciate. Per i terreni acidi sono utili leggere calcitazioni (Hector, 66). Le concimazioni potassiche rallentano l'infezione (Cralley, 39); tale effetto è pure stato da noi notato, però la riduzione della malattia è esigua. È raccomandabile non seminare i vivai di riso, per il trapianto, eccessivamente fitti (Roger, 113).

Vantaggiosa è pure la semina di varietà precoci che compiono il ciclo vegetativo prima del massimo sviluppo del fungo.

Risultati discreti si ottengono con l'avvicendamento della coltura a riso con altre colture in modo da favorire la distruzione degli sclerozi; a tale scopo è pure consigliabile una aratura profonda onde favorire l'accumulo della umidità che accelera la distruzione degli sclerozi.

La semina di varietà resistenti è forse l'avvertenza che merita maggior considerazione, meglio ancora se alla resistenza è unita la precocità.

Notevole lavoro di ibridazione e di selezione è stato condotto in America Settentrionale al fine di ottenere buone varietà resistenti; per i risultati ottenuti rimandiamo alla bibliografia (Bremer 21—22, Luthra 77, Snowden 125, Cralley 37, Tullis 139, ecc. Young 152).

Osservazioni sulla suscettibilità delle razze di riso italiane quali: Arborio, Sesia, Vialone, sono state compiute da Chiappelli (35—36) alla Staz. Sper. di Risicoltura di Vercelli, il quale è giunto alla conclusione di dover sostituire queste razze, in quelle risaie molto infette. Nostre osservazioni condotte in campo, han messo in evidenza la suscettibilità oltre che delle varietà Maratelli, Sesia e Vialone anche dell'Arborio, Rinaldo Bersani, Pierrot; in minor grado il Franco Roncarolo e il Balilla. La suscettibilità è, però, fortemente influenzata dalla quantità di inoculo, per cui anche una varietà resistente può ammalarsi in un campo molto infetto, e viceversa.

Molto resistenti si sono dimostrate in campo le varietà Chinese originario, Americano 1600, Razza 77 e in parte il Balilla. Abbiamo pure condotto prove in vaschette metalliche seminate a riso e infettate artificialmente con sclerozi; in considerazione del decorso abbastanza fresco della primavera e dell'estate 1951, e per l'impiego nella irrigazione di acqua poco calda, si

sono avute infezioni piuttosto lievi ma sufficientemente concordanti con le osservazioni in campo, come segue:

Varietà	Infezioni Sperimentali	Infezioni in campo
1. Precoce Allorio	poco colpito	—
2. Precoce Sesia	molto „	molto colpito
3. Ardizzone	discret. „	—
4. Stirpe 253	poco „	—
5. „ 136	discret. „	—
6. „ 115	molto „	—
7. Arborio	„ „	molto colpito
8. Americano 1600	pochiss. colpito	pochiss. colpito
9. Precoce 6	discret. „	poco „
10. Razza 77	non „	pochiss. „
11. Balilla	pochiss. „	scarsam. „
12. Carnaroli	poco colpito	molto colpito
13. Rinaldo Bersani	„ „	discret. „
14. Maratelli	moltiss. „	moltiss. „
15. Pierrot	poco „	molto „
16. Nero vialone	molto „	discret. „
17. Franco Roncarolo	poco „	discret. „

Come si vede le migliori razze di riso oggi coltivate in Italia sono più o meno colpite dalla malattia, e, dal fatto che la loro coltivazione in questi ultimi anni accenna ad incrementare, appare evidente che le nostre risaie vanno sempre più arricchendosi di sclerozi con grave pregiudizio delle future coltivazioni. La varietà Precoce-6 e Razza 77 che si sono dimostrate discretamente resistenti possono essere usate nelle ibridazioni.

La lotta chimica diretta al fine di impedire la germinazione degli sclerozi, è stata da noi presa pure in esame. Nella presunzione che il solfato di rame, usato in primavera contro le alghe in risaia, possa agire contro gli sclerozi germinanti, abbiamo predisposto una prova in campo facendo sciogliere presso la bocchetta di immissione dell'acqua, del solfato di rame in ragione di 3 kg per ha e ripetendo la somministrazione per tre volte di seguito a distanza di 10 giorni. I risultati non sono stati quelli sperati perchè l'infezione si è verificata ugualmente. I motivi del parziale insuccesso sono stati chiariti in prove di laboratorio. Piantine di riso erano poste in una soluzione di solfato di rame alla diluizione di $\frac{1}{10\,000}$, $\frac{1}{100\,000}$, $\frac{1}{500\,000}$, $\frac{1}{1\,000\,000}$ rispettivamente, e quindi infettate con sclerozi posti a galleggiare nell'acqua; le piantine erano tenute in tubi da saggio a temperatura ambiente, sul tavolo del laboratorio a 20—28 ° C. A distanza di 7 giorni tutte le piantine presentavano macchie tipiche della malattia causata dallo *Sclerotium oryzae*, in misura però crescente con la maggior diluizione di solfato di rame. Si è constatato poi che con l'agitazione, molti sclerozi rimangono aderenti

alle piantine ad un livello più alto di quello della soluzione; pertanto germinano senza risentire della presenza del solfato di rame. Questa condizione si verifica anche in campo, ad opera del moto ondoso delle acque che spinge gli sclerozi nelle porzioni più alte delle piante; ciò spiega l'insucesso delle prove di disinfezione dell'acqua di risaia.

Conclusione e riassunto

Da quanto abbiamo esposto possiamo riassumere:

1. Il ciclo biologico dello *Sclerotium oryzae* affermato da Tullis (1932—1933) risulta svolgersi egualmente nelle risaie italiane.
2. Questo ciclo comprende oltre la fase scleroziale, una fase conidica (*Helminthosporium sigmoideum* Cav.) e una ascofora, (*Leptosphaeria salvinii* Catt.). Ambedue queste fasi erano state descritte da tempo in Italia, ma non era stata osservata la loro connessione metagenetica.
3. Sono stati studiati vari ceppi del patogeno, e sono state rilevate diversità morfologiche e colturali.
4. In particolare dall'esame biometrico e statistico delle dimensioni degli sclerozi, sia in vivo su stoppie, sia in coltura, risulta evidente la presenza di ceppi distinti biometricamente. Questa diversità fa presupporre una diversità genetica del materiale stesso in relazione alla riproduzione sessuale del patogeno.
5. La malattia è stata riprodotta sperimentalmente e ne sono date la sintomatologia e la patogenesi in campo. L'azione patogenetica del fungo appare prevalentemente in un disfacimento del tessuto parenchimatico del culmo, con lisi delle pareti cellulari.
6. La malattia si trasmette da un anno all'altro con gli sclerozi e forse anche con i conidi, non con i periteci. La malattia ha carattere endemico essendo diffusa quasi ovunque, ma raramente raggiunge una notevole intensità epidemica.
7. I danni in Italia sono raramente di forte intensità; più notevoli se alla malattia si accompagna, per effetto di cause metereologiche, l'allettamento delle piante.
8. La lotta può effettuarsi nel modo migliore con l'uso delle razze italiane resistenti e con alcune pratiche colturali intese a impedire la conservazione e la vitalità degli sclerozi.

Summary

1. The biological cycle of the *Sclerotium oryzae* asserted by Mr. Tullis (1932—33) appears to develop in the Italian rice-plantations as well.
2. This cycle, besides a sclerotial phase, includes also a conidic phase (*Helminthosporium sigmoideum* Cav.) and a peritecial phase, (*Leptosphaeria salvinii* Catt.). Both these fungi had been described since long in Italy but their metagenetic connection had been overlooked.
3. Many strains of the above mentioned pathogenous have been examined; and many cultural and morphological differences have been revealed.

4. From the biometric and statistic exam of the sizes of the sclerotia, in particular, both in life on stubbles and in culture, the existence of distinct biometrical strains appears clearly. This difference implies a genetic difference of the material itself in relation to the sexual reproduction of the pathogenous.
5. The disease has been experimentally reproduced and the symptomatology and pathogenesis in question have been established. The pathogenetic action of the fungus reveals itself mainly through a decomposition of the parenchymal tissue of the culm and through a lesion of the cellular walls.
6. The disease is transmitted from one year to the other by sclerotia and perhaps also by conidia not by peritecia. It has an endemic character as it is spread nearly all over, but seldom does it reach a considerable epidemical intensity.
7. The damages caused in Italy by this disease are rarely great; they are more considerable when, the disease being present, the plants are knocked down owing to meteorological causes.
8. The most successful way to fight it is the use of the strong Italian races and of some cultural processes which are meant to handicap the conservation and vitality of the sclerotia.

Zusammenfassung

1. Der Entwicklungsgang des *Sclerotium oryzae* in den italienischen Reisfeldern verläuft in der von TULLIS (1932—33) beschriebenen Weise.
2. Der Entwicklungszyklus umfaßt außer dem Sklerotienstadium noch ein Konidienstadium (*Helminthosporium sigmoideum* Cav.) und ein Ascosporenstadium (*Leptosphaeria salvinii* Catt.). Die beiden letztgenannten Pilze sind schon vor langer Zeit in Italien beschrieben worden, doch war ihr entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang bisher nicht bekannt.
3. Die verschiedenen Stämme des Erregers unterscheiden sich morphologisch und in ihrem Verhalten in Reinkultur.
4. Bei der biometrischen Untersuchung der Sklerotien in vivo (auf Stoppeln) und in vitro ergaben sich vor allem Unterschiede zwischen den verschiedenen Stämmen; diese lassen auf genetische Verschiedenheiten des untersuchten Materials im Zusammenhang mit der sexuellen Fortpflanzung schließen.
5. Auf Grund von Infektionsversuchen werden Symptome und Krankheitsverlauf beschrieben. Der Pilz bewirkt vor allem einen Zerfall des Parenchyms der Halme mit Zerstörungen der Zellwände.
6. Die Krankheit überwintert mit Sklerotien und vielleicht auch Konidien, aber nicht mit Perithezien. Sie ist endemisch und überall verbreitet, erreicht aber nur selten größere praktische Bedeutung.
7. Die Krankheit verursacht in Italien selten wesentliche Schäden; wenn die infizierten Pflanzen durch schlechtes Wetter zu Boden gedrückt werden, können die Schädigungen größeres Ausmaß annehmen.

8. Die Bekämpfung erfolgt am besten durch Anbau der resistenten italienischen Sorten und durch Kulturmaßnahmen, welche die Lebensfähigkeit der Sklerotien beeinträchtigen.

Bibliografia

1. Abe, T.: Journ. Plant. Protect. XIV, 12 pp. 1927 (Abs. in Japanese Journ. of Botany, IV, 1 p. [I] 1928).
2. — —: Administration Report of the Director of Agriculture Trinidad and Tobago, for the year 1932; 58 pp., 1933.
3. — —: Annual (40th) Report of the Arkansas Agricultural Experiment Station for the fiscal year ending June 30, 1928. Arkansas Agr. Exp. St. Bull. **231**, 82 pp. 1928.
4. — —: Annual (46th) Report of the Arkansas Agricultural Experiment Station for the fiscal year ending June 30, 1934. Arkansas Agric. Exp. Sta. Bull. **312**, 63 pp., 1934.
5. — —: Annual (48th) Report of the Arkansas Agricultural Experiment Station for the fiscal year ending June 30, 1936. Arkansas Agric. Exp. Sta. Bull. **337**, 73 pp., 1936.
6. — —: Annual (26th) Report of the Bureau of Agriculture, Philippine Islands, for the fiscal year ending December **31**, 95 pp., 1927.
7. — —: Annual (26th) Report of the Bureau of Agriculture, Philippine Islands, for the fiscal year ending December **31**, 81 pp., 1927—1929.
8. — —: Annual (28th) Report of the Bureau of Science, Philippine Islands, for the year ending December **31**, 1929; 87 pp. 1930.
9. Anonima: Plant Diseases Section — 23 rd Ann. Rept. Philippine Islands; Bureau of Agric. for the fiscal year ending December **31**, 1923, 159—172; 1924 — IV — 469.
10. — —: Plant Pathology 42nd Ann. Rept. Arkansas Agr. Exp. Sta. for the fiscal year ending June 30, 1930 (Bull. 257) 1930 pag. 72 + 85.
11. — —: Plant Pathology 43rd Ann. Rept. Arkansas Agr. Exp. Sta. for the fiscal year ending June 30, 1931 (Bull. 268) pag. 57—69, 1931.
12. — —: Plant Pathology 44th Ann. Rept. Arkansas Agr. Exp. Sta. for the year ending June 30, 1932 (Bull. 280) 54—58, 1932.
13. — —: Reports on diseases of plants in Ceylon during 1927. Ceylon Dept. of Agr. Tecn. Repts. for the year 1927, (I) — (II), 1928.
14. Atanasoff, D., Dodoff, D., Kovacevski, I. C.: Bull. Soc. Bot. de Bulgarie, Sofia, IV, 36—43, 1931.
15. Baldacci, E.: Ann. Accad. Agr. Torino, XC, 53—82, 1948.
16. — —, Ciferri, R.: Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, S. IV, VII, 161—184, 1936.
17. Brat, H.: Bull. Econ. Endochine, N. S. XXXIV, 779 B—796 B, 1931.
18. Baudys, E.: Mykologia, Praga VII, 4—5, 50—55, 1930.
19. Bouriquet, C.: Mycologia, Suppl. colon. XIII, 29—32, 1948.
20. — —: Agron. Trop. **4**, 1—2, 81—89, 1949.
21. Bremer, H., Ismen, H., Skarel, G., Özkan, H., Özkan, M.: Rev. Fac. Sci. Univ. Istambul, Ser. B, XIII, **2**, 122—172, 1947.
22. — —, Özkan, H.: Zirazt Dergisi 7, No. 73/74, 41 + 53, 1946.
23. Briosi, G., Alpe, V., Menozzi, A.: Atti Ist. Bot. Sot. Univ. Pavia, S. 11, IV, pag. LXVIII, 1897.
24. — —, — —, — —: Atti Ist. Bot. Sot. Univ. Pavia, S. II, IV, pag. LXXVII, 1897.
25. — —, Cavara, F.: I funghi parassiti delle piante coltivate od utili, essicati, delineati e descritti. Fasc. 1, n. 25, Pavia 1888.
26. Bryce, G.: Report on the work of the Botanical and Mycological Division. Rept. Dept. of Agr. Ceylon 1920, pp. 13—15, 1921.

27. BAGNICOURT, F.: Bull. Econ. Indochine N. S., XXXV, pp. 476 B—514 B, 1932.
28. — —: Bull. Econ. Indochine, XXXVII, 1320—1321, 1934.
29. BUTLER, E. J.: Agr. Research Inst. Pusa, Bull. **34**, 1913, 34—36.
30. CATTANEO, A.: Rend. R. Ist. Lomb. Sci. Lett. (2) **9**, 801—807, 1876.
31. — —: Arch. Trienn. del Lab. di Bot. Critt. Pavia, II—III, 75—83, 1879.
32. — —: Arch. Trienn. del Lab. di Bot. Critt. Pavia, II—III, 115—128, 1877—1879.
33. CAVARA, F.: Revue Mycologique, XI, 44 185, 192, 1889.
34. — —: Atti Ist. Bot. R. Univ. Pavia **11**, 284, 291, 1892.
35. CHIAPPELLI, R.: Risicoltura, XXIX, il, 319—321, 1939.
36. — —: Risicoltura **4**, XXX, 88—89, 1940.
37. CRALLEY, E. M.: Bull. Ark. Agr. Exp. Sta. **383**, 17 pp., 1939.
38. — —: J. Amer. Soc. Agron. XXXV, **6**, 499—507, 1943.
39. — —, TULLIS, E. C.: Ark. Agr. Exp. Sta. Bull. **312** (Ann. Rept. 46), 52—53, 1934.
40. — —, — —: Journ. of Agr. Res. 51, **4**, 341—348, 1935.
41. — —, — —: Bull. Ark. Agr. Exp. Sta. **345**, 24 pp., 1937.
42. DODOFF, D. N., KOVACEVSKI, I. C.: Scientifix Trans. Bulgariam Agr. Soc. Sofia **25**, 61 pp., 1930.
43. ENDO, S.: Journ. Plant. Protect. XIV, 6 pp., 1927 (in Giapponese). Abs. in Japanese Journ. of Bot. III, **4**, 77, 1927.
44. — —: Ann. Phytopath. Soc. Japan., II, 280—283, 1930 (Abs. in Japanese Journ. of Bot., V, **4**, pp. 89—90, 1931.
45. — —: Agr. Studies, XIV, 3 pp., 1930 (Abs. in Japanese Journ. of Bot., V, **4**, 89, 1931).
46. — —: Forsch. auf dem Geb. der Pflanzenkrankh. (KYOTO) I, 126—148, 1931 (Abs. in Japan. Journ. of Bot., VI, **2**, 28, 1932).
47. — —: Forsch. auf dem Geb. der Pflanzenkrankh. (KYOTO) I, 149—167, 1931 (Abs. in Japan. Journ. of Bot., VI, **2**, 28, 1932).
48. — —: Bul. of Miyazaki. Coll. of Agr. and For., **5**, 51—75, 1933.
49. — —: Trans. Tottori Soc. Agr. Sci. IV, **3**, 362—367, 1933 (Abs. in Biologia, Abs. VIII, **8**, 1908, 1934) XIV—120.
50. — —: Bull. Miyazaki Coll. Agr. For. **8**, 75—78, 1935, XV—48.
51. — —: Bull. Miyazaki Coll. Agr. For. **8**, 1—11, 1935.
52. — —: Bull. Miyazaki Coll. Agr. For. **8**, 61—73, 1935.
53. — —: Ann. Phytopath. Soc. Japan., X, **1**, 7—15, 1940.
54. — —, SAKITO, S.: Trans. Tottori Soc. Agr. Sci., IV, **2**, 106—110, 1932 (XIV, 652).
55. FARNETI, R.: Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, N. S. X, 203—213, 1904.
56. — —: Atti Ist. Bot. Univ. Pavia, XVIII, 109—115, 1921.
57. FERNANDO, M.: Trop. Agriculturist, XCV, **2**, 72—78, 1940.
58. FERRARIS, T.: Flora Italica Cryptogama Pars **1**: Fungi Hyphales: 1910, pag. 385.
59. FERRER, B. B.: Agricoltura, Bogotà, VIII, **2**, 90—91, 1936.
60. FRANCO, R. M.: Agricoltura, Bogotà, VIII, **1**, 3—10, 1936.
61. GADD, C. H., BERTUS, L. S.: Ann. Roy. Bot. Gard., Peradeniya, XI, **1**, 27—49, 1928.
62. — —, — —: Year-Book Dept. of Agr., Ceylon 1926, 31—33.
63. GODFREY, G. H.: Abs. in Phytopathology, VI, 97, 1916.
64. — —: Abs. in Phytopathology, X, 342—343, 1920.
65. HASHIOKA, Y.: J. Soc. Trop. Agr. XVI, 111—113, 1944.
66. HECTOR, G. P.: Ann. Rept. Dept. of Agr. Bengal for the year 1930—31, 35—44, 1931.
67. HEMMI, T.: Ann. Phytopath. Soc. Japan, II, **1**, 9—13, 1927.
68. — —, ENDO, S.: Memoirs of the Coll. of Agr. Kyoto, Imp. Univ., **2**, 39—49, 1928.
69. — —, — —: Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenk., Kyoto, I, 111—125, 1931.
70. — —, — —: Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenk., Kyoto, II, 202—218, 1933.
71. — —, YOKOGI, K.: J. Agr. Hort., II, **9—10**, 955—1094, 1927.
72. — —, — —: Memoirs of the Coll. of Agr. Kyoto, Imp. Univ., **7**, 1—22, 1928.
73. HIGGINS, B. B.: Abs. in Phytopathology, XVII, **1**, 53, 1947.

74. Ikata, S., Hitomi, T.: Journ. Plant. Protect, XVII, 12 pp., 1930 (Abs. in Japan. Journ. of Bot. V, 33, 1930.
75. Ikeno, S.: Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenkrankh., Kyoto II, 219—237, 1933.
76. — —: Forsch. auf dem Gebiet der Pflanzenkrankh., Kyoto II, 238—256, 1933.
77. Luthra, J. C., Saltar, A.: Indian J. Agr. Sci. VI, 4, 973—984, 1936.
78. Mallamaire, A.: Agron. trop. 4, 1—2, 77—80, 1949.
79. Marchionatto, J. B.: Physis. Rev. Soc. Argentina Cien. Nat. XI, 39, 301—305, 1933.
80. Martyn, E. S.: Agr. Journ. Brit. Guiana, III, 4, 226—233, 1930.
81. — —: Agr. Journ. Brit. Guiana, VII, 2, 142—143, 1936.
82. Matsumoto, T.: Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc., XIII, 3, 115—120, 1934, XIII, 804.
83. — —, Yamamoto, U., Hirane, S.: Journ. Soc. Trop. Agr. Formosa, IV, 370—388, 1932.
84. Mendiola, N. B., Ocfemia, G. O.: Philipp. Agr. XV, 3, 117—128, 1926.
85. Metcalf: Science (n. s.), 25, 264—265, 1907.
86. Miyake, I.: Journ. of the College of Agr., Imp. Univ. of Tokyo, II, 4, 237—276, 1910.
87. Mundkur, B. B.: Indiana Journ. Agr. sci. V, 3, 293—414, 1935.
88. Nandi, H. K.: Annual Report of the Economic Botanist, Assam, for the year 1939—40. Rep. Dep. Agr. Assam, 1939—40, 85—138, 1941.
89. Nakata: Illustrated Crop Diseases, Tokyo, 1934.
90. Nikisado, Y., Hirata, K.: Ber. Ohara Inst., VII, 4, 535—547, 1937.
91. Padwich, Wattis: Manual of Rice diseases, Kew. 1950.
92. Paintin, Ruth D.: Mycologia, XX, 1, 22—25, 1928.
93. Paracer, C. S., Luthra, J. C.: Indian J. Agr. Sci., XIX, 1, 44—48, 1944.
94. Park, M: Report of the Mycological Division-Ceylon Dept. of Agr. Tech. Repts. for the year 1928, pag. 1—6, 1929.
95. — —: Report of the Mycological Division-Ceylon Dept. of Agr. Tech. Repts. for the year 1929, pag. 1—6, 1930.
96. — —: Report of the work of the Division of Plant Pathology. Adm. Rep. Actg. Dir. Agr. Ceylon, 1939, D 20—D 22, 1941.
97. — —, Bertuz, L. S.: Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya, XI, 4, 319—331, 1932.
98. — —, — —: Ann. Roy. Bot. Gard. Peradeniya, XI, 4, 342—359, 1932.
99. — —, — —: Ceylon J. Sci. (Ann. R. Bot. Gard. Peradeniya), XII, 1, 1—10, 1934.
100. — —, — —: Ceylon J. Sci. (Ann. R. Bot. Gard. Peradeniya), XII, 1, 11—23, 1934.
101. Pearl, R. T.: Rept. Dept. Agr. Central Provinces and Berar, for the year ending 30th June 1922, 19—20, 1923.
102. Pererra, E., de Braganca: Agr. Sci., X, 331—345, 1922.
103. Rae (Mc), W.: Report of the Imperial Mycologist Agr. Res. Inst. Pusa Scientific Rept., 1921—1922, 44—50, 1922.
104. — —: Report of the Imperial Mycologist. Sci. Repts. Agric. Res. Inst. Pusa, 1922—1923, 53—60, 1923.
105. — —: Report of the Imperial Mycologist. Sci. Repts. Imperial Inst. Agric. Res. Pusa, 1931—1932, 122—140, 1933.
106. Reyes, G. M.: Philippine Bur. Agr. Circ. 227, 1928.
107. — —: Philipp. Agric. Rev., XXII, 4, 313—331, 1929.
108. — —: Philipp. J. Agric., VII, 4, 413—418, 1936.
109. — —: Philipp. J. Agric., X, 4, 419—436, 1939.
110. Rhindi, D.: Report of the Mycologist, Burma, for the period ending 30th June 1924. Rangoon, Supdt. Govt. Printing and Stationary, Burma, 6 pp., 1924.
111. — —: Annual Report of the Mycologist, Burma, for the year and the 30th June 1925. Rangoon, Supdt. Govt. Printing and Stationary, Burma, 5 pp., 1926.
112. — —: Annual Report of the Mycologist, Burma, for the year ending the 30th June 1926. Rangoon. Supdt. Govt. Printing and Stationary, Burma, 7 pp., 1927.
113. Roger, L.: Bull. Econ Indochina VI, 1—5, 303 pp., 1942.
114. Ryker, T. G.: Bienn. Rept. Rice Exp. Sta. 1935—1936, 13—14, 1937.

115. RYKER, T. G.: Proc. Sixth Congr. Int. Soc. Sug.-Cane Tech., Baton Rouge, 1938, 198—201, 1939.
116. — —, GOOCH, F. S.: Phytopathology XXVIII, 4, 233—246, 1938.
117. SACCARDO, P. A.: Sylloge fungorum etc. Vol. II, 62, N° 185 (3079), Padova 1883.
118. — —: Sylloge fungorum etc. Vol. X, 615, N° 28 (7559), Padova 1892.
119. — —: Sylloge fungorum etc. Vol. XIV, 1153, N° 75 (4636), Padova 1899.
119. b. — —: Sylloge fungorum Vol. XIX—XX — Index Iconum — fungorum Voll. II, pag. 875, Padova 1911.
120. SAHA, J. G.: Sci. Cult., XI, 1, 13—20, 2, 69—74, 1945.
121. SAKURAI, M.: Eime Agr. Exp. Sta. Pbl. I, 51 pp., 1917 (Botanical Abs. X, 195, n. 1897).
122. SHAW, F. J. F.: Memm. Dep. Agr. India Bot. Sect., VI, 2, 11—23, 1913.
123. SMALL, W.: Yearbook Dept. of Agr. Ceylon 1927, 7—10, 1927.
124. — —: Report of the Mycological Division. Ceylon Administration Rept. for 1926, D 19—D 20, 1927.
125. SNOWDEN, J. D.: Report of the Government-Botanist for the period 1st. April to 31st December 1920. Ann. Rept. Dept. of Agr. Uganda for the nine months ending December 31, 1920, pag. 43—46, 1921.
126. — —: The Rice Journal, 53, n. 1, 7, 8, 1950.
127. SUBBA RAO, K. M.: Report of the Mycologist 1942—43, Report of the Mycologist 1943—44. Adm. Rept. Tea Sci. Sect. Unit. Plant. Ass. S. Ind. 1942—43, 16—21, 1943, 1943—44, 8—9, 1944.
128. TAKANASCKI, T.: Phytopathology, XVII, 4, 239—245, 1927.
129. TEODORO, N. G., BOGAYONG, J. R.: Philipp. Agric. Rev. XIX, 3, 237—241, 1926.
130. TERVET, I. W.: Phytopathology, XXVII, 4, 531—546, 1937.
131. THOMPSON, A.: Malayan Agric. Journ., XVI, 2, 48—58, 1926.
132. THOMPSTHONE, E., SAWYER, A. M.: Burma Dept. Agr. Bull. 16, 12 pp., 1920.
133, THÜMEN, F. von: Phys. Vers. Stat. für Wein und Obstbau zur Klosterneuburg bei Wien, 12, 18—19, 1889.
134. TISDALE, W. H.: Journ. Agric. Res., XXI, 9, 649—657, 1921.
135. TOCCHETTO, A.: Rev. Agron. Porto Alegre, XI, 10, 121—122, 1946.
136. TULLIS, E. C.: Abs. in Phytopath., XXII, 1, 28, 1932.
137. — —: Abs. in Phytopath., XXIII, 1, 35, 1933.
138. — —: Journ. Agr. Res. 47, 9, 675—687, 1933.
139. — —, CRALLEY, E. M.: Ark. Agr. Exp. Sta. Bull. 295, 23 pp.
140. — —, — —: Phytopathology, XXXI, 3, 279—281, 1941.
141. — —, JONES, J. W., DAVIS, L. L.: Phytopath., XXIV, 9, 1047, 1934.
142. TURCONI, M.: Atti. Ist. Bot. R. Univ. Pavia, XII, 148, 247, 257, 1907.
143. VINCENS, F.: Rapport sommaire sur les travaux effectués au Laboratoire de Phytopathologie de L'Institut Scientifique de l'Indochine, du 1er Janvier 1919 au 1er Juillet 1921, Saigon 19 pp., 1921.
144. — —: Rev. Path. Vég. et Ent. Agric., X, 2, 112—131, 1923.
145. WEI, C. T.: Nanking Coll. of Agr. For. Bull. (N. S.), 16, 40 pp., 1934.
146. — —: Nanking Coll. of Agr. For. Bull. (N. S.), 15, 21 pp., 1934.
147. WINKLER, H.: Tropenpflanzenk., XXVIII, 4, 174—189, 5, 242—255, 1925.
148. YOKOGI, K.: Journ. Plant. Protect., XIV, 12 pp., 1927 (Abs. in Japanese Journ. of Bot., III, 4, 120, 121, 1927).
149. — —: Agr. Hort., II, 487—500, 1927 (Abs. in Japanese Journ. of Bot., III, 4, 121, 1927).
150. YOUNG, V. H.: Abs. in Phytopath., XVI, 1, 86, 1926.
151. — —: Rice Journ., 29 (I): 11—22.
152. — —, ROSEN, H. R.: Plant Diseases. 38th Ann. Rept. Ark. Agr. Exp. Sta. for the fiscal year ending June 30, 1926, 52—59, 1926.
153. — —, — —: Plant Pathology. 39th Ann. Rept. Ark. Agr. Exp. Sta. for the year ending June 30, 1927 (Bull. 221) 25—29, 1927.

Aus dem Staatsinstitut für Angewandte Botanik der Universität Hamburg

Über die „Purple Stain"-Krankheit der Sojabohne und die Farbstoffbildung ihres Erregers *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom.

Von

F. Deutschmann

Mit 14 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — A. Krankheitsbild. 1. Symptome an den Samen. 2. Symptome an der Pflanze. — B. Zur Biologie und Physiologie von *Cercosporina kikuchii*. 1. Morphologie und Verhalten in Reinkulturen. 2. Einfluß der Temperatur auf das Mycelwachstum. 3. Einfluß der Reaktion auf das Mycelwachstum. 4. Zur Farbstoffbildung des Pilzes. — C. Zusammenfassung.

Einleitung

Als vor einiger Zeit dem hiesigen Institut aus amerikanischen Importen stammende Sojabohnen zur Untersuchung auf Besatz mit *Datura stramonium* L. eingeschickt wurden, fielen einige Samen durch rotviolette Verfärbung der Samenschale auf. Die nähere Untersuchung ergab, daß es sich um einen Pilzbefall handelte, dessen Krankheitsbild in Amerika unter dem Namen „Purple Stain" bekannt ist. In Deutschland scheint diese Krankheit bzw. das Krankheitsbild auf den Samen von Soja bisher nicht beobachtet worden zu sein.

Die rotviolette Verfärbung der Samen wird durch *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom. hervorgerufen, einen Pilz, der in morphologischer und physiologischer Hinsicht große Ähnlichkeit mit den Arten der Gattung *Cercospora* zeigt. Das Krankheitsbild auf Sojabohnen ist zum erstenmal von Suzuki 1921 (16) in Korea beobachtet worden. 1925 haben die Japaner Matsumoto und Tomoyasu (11) den Pilz aus Sojabohnen isoliert.

In den Vereinigten Staaten wurden mit *Cercosporina kikuchii* befallene Sojapflanzen im Jahre 1924 von Gardner (5) in Indiana und 1927 von Lehmann (8) in Nordkarolina beobachtet. Während sich bei den ersten Untersuchungen gewöhnlich weniger als 1 % der Samen als krank erwiesen, stieg in den darauffolgenden Jahren unter gleichzeitiger Ausbreitung auf weitere amerikanische Staaten der Befall durch diesen Pilz mehr und mehr an, wie aus den neuesten Untersuchungen von Lehmann (9) hervorgeht.

A. Krankheitsbild

Symptome an den Samen

Charakteristisch für die mit *Cercosporina kikuchii* befallenen Samen der Sojabohnen ist die rotviolette Verfärbung der Samenschale. Sie wird durch Farbstoffausscheidungen des Pilzes verursacht und ist insofern außerordentlich typisch, als ähnliches von keinem anderen pilzlichen oder bakteriellen Erreger auf Sojabohnen bekannt ist. Je nach der Stärke des Pilzbefalls sind mehr oder weniger große Flächen der Samenschale verfärbt (Abb. 1). Die Flecke sind im allgemeinen nicht scharf gegen das gesunde Gewebe abgegrenzt, sondern gehen allmählich in dieses über. Die Verfärbung ist bei leichtem Befall häufig im Bereich des Nabels bzw. zu einem Ende des Samens hin etwas stärker. Bei sehr starkem Befall sehen die Samen in ihrer Gesamtheit intensiv rotviolett aus und lassen nichts mehr von ihrer gelbweißen bis gelbgrünen Eigenfarbe erkennen, außerdem sind solche Samen meist etwas kleiner.

Abb. 1. Links gesunde, rechts mit *Cercosporina kikuchii* befallene Samen

Neben diesen für *Cercosporina kikuchii* charakteristischen Verfärbungen sind vor allem bei stärkerer Infektion Rißbildungen der Samenschale zu beobachten (Abb. 2). Diese Risse verlaufen gewöhnlich senkrecht zur Längsachse des Samens und sind auch als Folge des Pilzbefalles anzusehen. Allerdings ist auch bei gesunden Samen gewisser Sojabohnensorten ein Aufreißen der Samenschale festzustellen (B. RESÜHR 13). Das zwischen den Rissen freigelegte Gewebe ist bei den erkrankten Samen deutlich schwächer violett gefärbt. Das äußere Bild solcher Samen erweckt den Eindruck, als wenn die Spalten die ganze Samenschale durchsetzen und die darunterliegenden Kotyledonen zu sehen sind. Tatsächlich verhält es sich aber so, daß nur die starren Palisaden- und Trägerzellen aufreißen, während die parenchymatischen Zellen der Samenschale infolge größerer Elastizität ihrer Zellwände intakt bleiben.

Zum mikroskopischen Nachweis des Pilzmycels im Gewebe der Samenschale sind besonders Quer- und Längsschnitte nach Behandlung mit Baumwollblau günstig (Abb. 3 u. 4). Es hat sich gezeigt, daß im allgemeinen die Stellen der Samenschale, die am stärksten verfärbt sind, auch am meisten Pilzmycel aufweisen. Besonders in den großen Interzellularen der Trägerzellschicht sind viele Pilzhyphen zu erkennen. Auf der Oberfläche der Samenschale werden, solange sich die Samen im Ruhezustand befinden, kaum Pilzhyphen angetroffen.

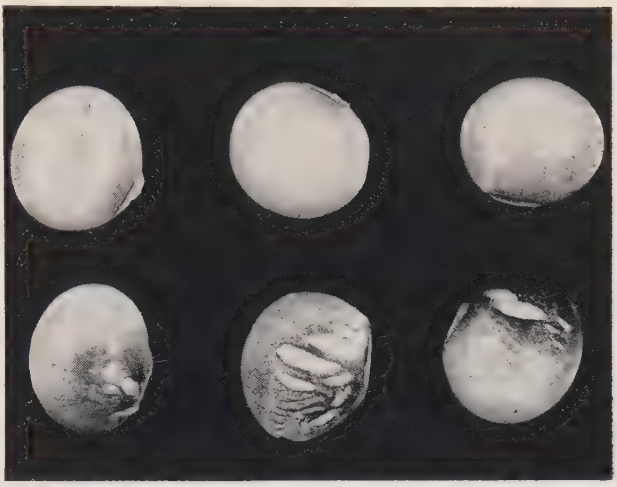


Abb. 2. Aufreißen der Samenschale bei erkrankten Samen (untere Reihe)

Im Gegensatz zur Samenschale zeigen die Kotyledonen in den allermeisten Fällen keine Verfärbung. Dementsprechend konnten am ruhenden Samen auch keine Pilzhyphen im Kotyledonengewebe beobachtet werden. Auch Isolierungsversuche aus den Kotyledonen führten zu negativen Ergebnissen.

Werden Samen, die auf Grund ihres Aussehens mit *Cercosporina kikuchii* befallen erscheinen, zur Keimung in Petrischalen bzw. im Sandkeimbett ausgelegt, so treten auf den Samenschalen nach einiger Zeit Pilzhyphen nach außen. Diese entwickeln sich zu Konidienträgern. Die an ihnen entstehenden endständigen, hyalinen Konidien keimen unter geeigneten Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen sofort wieder aus und geben dem zunächst grünen Mycel einen weißen Anflug. Hebt man die Samenschale ab, so ist nun eine leichte Fleckenbildung auf den Kotyledonen zu erkennen. Diese wird im Verlauf der Entwicklung stärker und führt allmählich zu einer rotbraunen Verfärbung des normalerweise grünen Kotyledonengewebes. Unter Schrumpfungserscheinungen wird es schließlich zum Absterben gebracht. Die Pilzinfektion der Kotyledonen von den Samenschalen tritt besonders dann

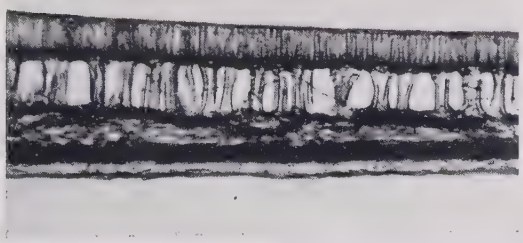


Abb. 3. Querschnittsbild durch die befallene Samenschale. Vergr. etwa 50fach

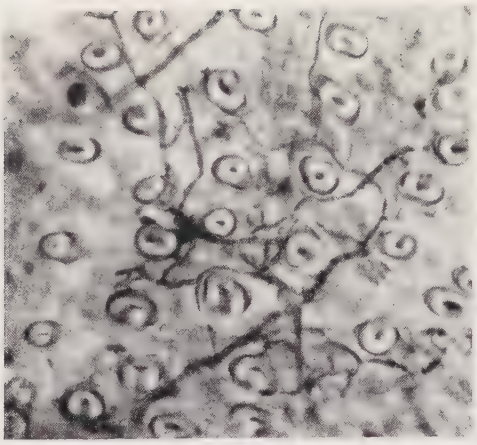


Abb. 4. Flächenbild der befallenen Samenschale (Trägerzellschicht). Vergr. etwa 230fach

stark auf, wenn die Samen schon äußerlich intensiv violett verfärbt sind und die Keimung relativ langsam verläuft oder aber Teile der Samenschale auch nach der Keimung an den Kotyledonen haftenbleiben. Geht die Keimung der Samen schnell vor sich, so kann der Keimling völlig gesund bleiben, obwohl die Samenschale typisch rotviolett verfärbt war. In diesem Falle zeigt es sich, daß der Pilz während der kurzen Keimdauer nicht genügend Zeit hatte, auf dem Keimlingsgewebe Fuß zu fassen. Nach amerikanischen Angaben von LEHMANN (9) soll in der Keimfähigkeit zwischen gesunden und an *Cercosporina* erkrankten Sojabohnen kein Unterschied bestehen.

Symptome an der Pflanze

Eingehende Untersuchungen über den Krankheitsverlauf während der Vegetation wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Das Krankheitsbild auf der Sojapflanze soll deshalb nur kurz gestreift werden. Nach Angaben von LEHMANN (9) sowie nach eigenen orientierenden Versuchen kommt es auf Stengeln, Blättern und Hülsen zur rotbraunen Verfärbung des gesunden Gewebes. Auf den Blättern handelt es sich hierbei um mehr oder weniger große rotbraune, unregelmäßige Flecke. Dieses Krankheitsbild unterscheidet sich deutlich von den Symptomen, wie sie durch die Froschaugenkrankheit *Cercospora diazu* Miura hervorgerufen werden (LEHMANN 10). Im letzten Falle entstehen viele kleine, scharf abgegrenzte Flecke, die im Zentrum nicht rotbraun bleiben, sondern mit der Zeit eine Aufhellung des abgestorbenen Gewebes erfahren. Die Fleckenbildung auf den Hülsen, hervorgerufen durch *Cercosporina kikuchii,* soll dagegen nicht immer ohne weiteres von den Krankheitssymptomen anderer Pilze zu unterscheiden sein, so daß erst das mikroskopische Bild Aufschluß über den Krankheitserreger gibt. Dagegen ist das anfangs eingehend beschriebene Krankheitsbild auf den Samen außerordentlich typisch.

B. Zur Biologie und Physiologie von *Cerosporina kikuchii*

Morphologie und Verhalten in Reinkulturen

K o n i d i e n : Die Form der Konidien entspricht der von der Gattung *Cercospora.* Es handelt sich aber um besonders lange, schmale, hyaline, bis 22fach septierte Konidien (Abb. 5). Nach MATSUMOTO (11) beträgt ihre Länge 80 bis 220 μ, unter Umständen bis 650 μ. Sie hängt, wie SCHMIDT (14) für *Cercospora beticola* festgestellt hat, von der relativen Luftfeuchtigkeit ab, d. h. bei höherer Luftfeuchtigkeit werden die Konidien länger. Nach dem Abfallen der Konidien kann es zu einer erneuten Konidienbildung auf demselben Konidienträger kommen. Hierbei wächst der Konidienträger

unmittelbar an der Konidienansatzstelle seitlich weiter und schnürt schließlich eine zweite Konidie ab. Dieser Vorgang kann sich mehrmals wiederholen.

In künstlichen Kulturen bildet *Cercosporina kikuchii* im allgemeinen keine Konidien. Dagegen trat auf sterilisierten Blatt- und Stengelstücken gelegentlich reichliche Konidienbildung auf.

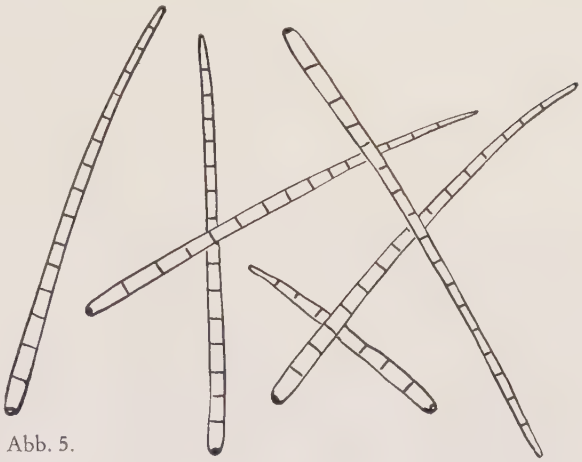


Abb. 5.
Konidien von *Cercosporina kikuchii*. Vergr. etwa 230fach

Die Keimung der Konidien konnte im hängenden Wassertropfen in der feuchten Kammer beobachtet werden. Im Bereich des Wachstumsoptimums von 25 bis 26° C wurde frühestens nach zwei Stunden der Keimungsbeginn festgestellt. Dabei treten fast gleichzeitig Keimschläuche aus mehreren Kammern einer Konidie. Besonders keimfähig sind die Polzellen. Nach 24 Stunden sind bereits kleine Seitenhyphen angelegt, wobei auch eine Septierung des jungen Mycels bereits zu erkennen ist. Mit zunehmendem Alter der Konidien läßt die Keimfähigkeit derselben stark nach; so war z. B. bei Konidien, die acht Wochen bei Zimmertemperatur aufbewahrt waren, nur noch eine sehr geringe Keimfähigkeit zu beobachten. Ähnlich liegen die Verhältnisse auch bei verschiedenen Arten der Gattung *Cercospora* (Stolze 15).

Zur Gewinnung von Reinkulturen wurde das Pilzmaterial durch Isolierung von kranken Sojabohnen gewonnen. Als feste Nährmedien dienten Kirsch-, Hafermehl-, Kartoffel- und Knop'scher Glukose-Agar. Bei Flüssigkeitskulturen wurde Knop'sche Glukose-Nährlösung verwandt. Die Kulturen wurden, wenn nicht anders angegeben, bei normaler Raumtemperatur gehalten.

Mycelentwicklung: Das Wachstum des Pilzes in künstlichen Kulturen erfolgt ohne Schwierigkeiten. In jungen Kulturen sind die Hyphen zunächst 3 bis 5 μ dick, hyalin und lassen deutliche Septierung erkennen. Bereits nach zwei bis drei Tagen kann eine leichte rotviolette Verfärbung des Mycels makroskopisch festgestellt werden. Mit zunehmendem Alter werden die Hyphen allmählich breiter (5 bis 8 μ), und der rotviolette Farbton wird durch eine Grünfärbung des Mycels überdeckt. Besonders die dem Nährsubstrat aufliegenden bzw. im Agar wachsenden Hyphen nehmen mit der Zeit eine dunkelgrüne bis dunkelbraune Farbe an, während das sich zu einem flachen Mycelrasen entwickelnde Luftmycel ein weißes bzw. hellgraues Aussehen zeigt.

Treten Bakterien durch Verunreinigung in Agar-Kulturen auf, so ist makroskopisch eine deutlich abgegrenzte Wachstumshemmungszone zum Bakterienherd hin zu beobachten. An dieser Hemmungszone ist das Mycel vom übrigen Pilzgewebe deutlich verschieden. Die Hyphen sind hier derbwandig, dunkelgrün und in ihrem Innern mit Fett-Tröpfchen angereichert. Dabei treten häufig die bereits von MATSUMOTO (11) beschriebenen chlamydosporenähnlichen, bis 12 μ breiten Zellgebilde auf (Abb. 6). Diese können einzeln oder aber auch zu mehreren hintereinanderliegend vorkommen. Bringt man Mycel aus diesen Hemmungszonen in ein neues Nährmedium, so beginnt ein erneutes Wachstum des Mycels unter gleichzeitigem Verbrauch der Reservestoffe, wie im allmählichen Verschwinden der anfangs reichlich vorhandenen Fett-Tröpfchen zu erkennen ist. Auch im neuen Nährmedium können zunächst noch diese kugelförmigen Zellformen auftreten, bevor das Mycel die normale Form annimmt (Abb. 7).

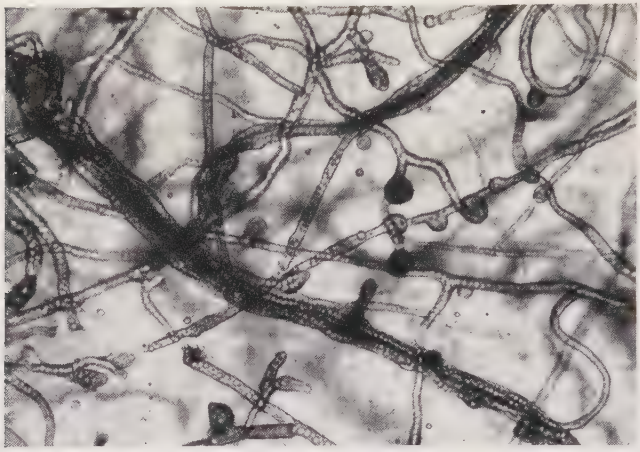


Abb. 6. Pilzmycel aus der Hemmungszone (s. Text). Vergr. etwa 250fach

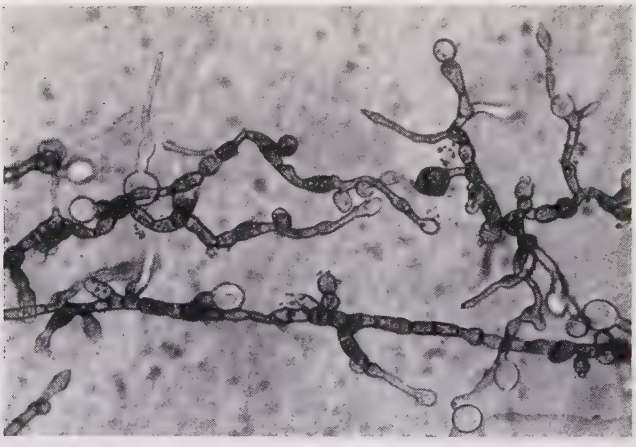


Abb. 7. Pilzmycel aus der Hemmungszone nach Übertragung in neues Nährsubstrat. Vergr. etwa 230fach

Einfluß der Temperatur auf das Mycelwachstum

Versuchsdauer: 14 Tage. Reaktion zu Beginn des Versuches: pH 4,8.

Wiederholungen: 10. Nährsubstrat: Kirsch-Agar.

Zur Feststellung der optimalen Temperatur für das Mycelwachstum wurden Petrischalen nach der Beimpfung zunächst 48 Stunden bei Zimmer-

temperatur gehalten, um ein gleichmäßiges Anwachsen der Kulturen zu gewährleisten.

Gemessen wurde der mittlere Durchmesser der Mycelfläche. Wie aus der graphischen Darstellung (Abb. 8) ersichtlich ist, lag das Optimum bei 25 bis 26 ° C.

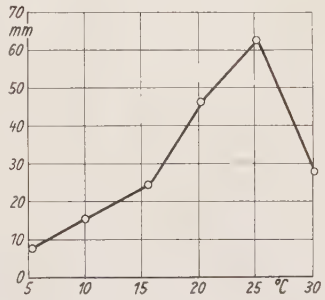


Abb. 8. Einfluß der Temperatur auf das Mycelwachstum

Einfluß der Reaktion auf das Mycelwachstum

Versuchsdauer: 12 Tage.

Angewandte Wiederholungen: 6.

Nährsubstrat: Knop'sche Glukose-Nährlösung.

Zur quantitativen Bestimmung des Mycelwachstums bei verschiedener Reaktion des Substrates wurden Flüssigkeitskulturen angesetzt. Die verschiedenen pH-Werte wurden mit Citrat-Phosphat-Puffer eingestellt und nach Sterilisation mit Lyphan-Papier kontrolliert. Es wurden je 25 ccm der Knop'schen Glukose-Nährlösung mit 25 ccm der Citrat-Phosphat-Lösung in Erlenmeyer-Kolben (300 ccm) gefüllt und nach der Sterilisation beimpft. Nach der Versuchsdauer wurde das Mycel abfiltriert, zweimal mit Aqua dest. gewaschen, bei 60 ° C im Thermostaten bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann gewogen. Anfänglich erfolgte die Einstellung des pH-Wertes der Kulturlösungen mit n/10 Salzsäure bzw. n/10 Natronlauge.

Mycelentwicklung des Pilzes bei verschiedener Reaktion der Nährlösung

pH		durchschn. Mycelgewicht in mg
am Anfang des Versuches	am Ende des Versuches	am 12. Tag
2,5	2,5	11
3,1	3,2	45
4,1	4,5	102*)
5,1	5,3	91
6,0	6,1	51
7,1	7,1	44
7,5	7,5	31

*) Stärkste Rotviolettfärbung des Filtrates.

Hierbei zeigte sich jedoch, daß infolge mangelnder Pufferung innerhalb weniger Tage die Reaktion der Nährlösung unter dem Einfluß des Pilzwachstums sich stark verschob. Mit dem Citrat-Phosphat-Puffer blieb dann die Verschiebung, wie aus der Tabelle hervorgeht, während der ganzen Versuchsdauer relativ gering. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der Tabelle zusammengefaßt.

Zur Farbstoffbildung des Pilzes

Die für befallene Samen so charakteristischen Verfärbungen treten auch in Nährsubstraten auf, wie bereits MATSUMOTO und TOMOYASU (11) in ihren Untersuchungen festgestellt haben.

Verfolgt man den Verlauf der Farbstoffbildung in glukosehaltigen Agar-Kulturen bei saurer Reaktion, so ist bereits nach zwei bis drei Tagen eine leichte rötliche Färbung des jungen Pilzmycels zu erkennen. Innerhalb der nächsten Tage vertieft sich der Farbton und geht allmählich in Rotviolett über. Gleichzeitig diffundiert der Pilzfarbstoff ins Substrat und bildet einen gefärbten Saum um die Pilzkultur. Mit zunehmender Ausbreitung des Mycels tritt aber allmählich eine Änderung im Aussehen der Kultur ein insofern, als sich vom Zentrum ein grüner Farbton mehr und mehr durchsetzt. Diese Veränderung ist in der Hauptsache auf die normale Grünfärbung des älter werdenden Pilzmycels zurückzuführen. Außerdem scheint aber auch der rotviolette Pilzfarbstoff unter der inzwischen alkalisch gewordenen Reaktion des Substrates chemische Umwandlungen erfahren zu haben. Mehrere Wochen alte Kulturen zeigen bis auf das weiß bleibende Luftmycel eine dunkelgrüne bis dunkelbraune Farbe.

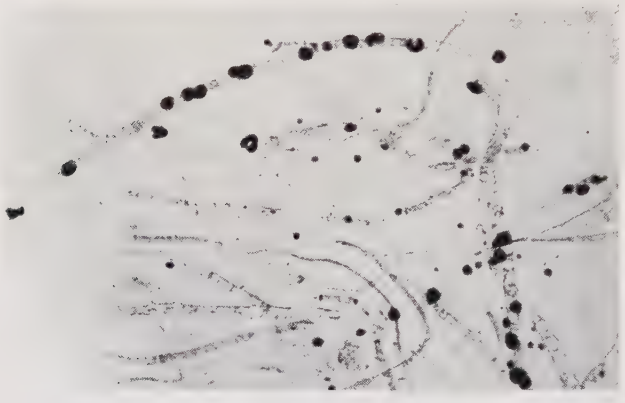


Abb. 9. Tröpfchenförmige Farbstoffablagerung auf den Wänden des Pilzmycels. Vergr. etwa 230fach

In Flüssigkeitskulturen liegen die Verhältnisse ähnlich. Zunächst ist in unmittelbarer Nähe der Flüssigkeitsoberfläche ein Auftreten des rotvioletten Farbstoffes zu beobachten. Gleichzeitig geht auch ein Teil des Farbstoffes vom Pilzmycel in die Kulturlösung und färbt diese entsprechend. Weiter untergetaucht wachsendes Mycel erscheint zunächst farblos. Ähnliche Beobachtungen sind auch bei anderen Pilzen gemacht worden (GROSSER 6). Nach längerer Kulturdauer kann es auch bei diesem zunächst farblosen Mycel zu einer Rotviolett-Färbung kommen, wobei der Farbstoff meistens in den Hyphen lokalisiert ist. Während dieses Mycel relativ lange rotviolett bleibt, nimmt dagegen das an der Flüssigkeitsoberfläche wachsende Mycel mit Ausnahme der weiß bleibenden Lufthyphen eine dunkelgrüne bis dunkelbraune Farbe an.

a) Farbstoffablagerung auf dem Mycel

Ein gewisses Interesse verdient die Farbstoffablagerung auf den Pilzhyphen, wie sie sowohl in Agar- als auch in Flüssigkeitskulturen be-

obachtet werden kann. Hierüber liegen in der Literatur bisher wenig Angaben vor. Im allgemeinen bleibt der entstandene Farbstoff in den Hyphen, oder aber der aus den Zellen heraustretende Farbstoff geht sofort in gelöster Form ins Substrat. Gelegentlich sind bei den Lufthyphen verschiedener Pilze kleine körnchenförmige Ablagerungen z. B. bei gewissen Penicillien zu beobachten (Tom-Raper 12). Dagegen werden Farbstoffablagerungen fast immer auf den Pilzhyphen der Flechten festgestellt (Zopf 18, Tobler 17). Es handelt sich hierbei um die Flechtensäuren, von denen eine größere Anzahl heute bereits bekannt ist. Auch bei den Hutpilzen hat man in einigen Fällen auf den Hyphen Farbstoffausscheidungen beobachtet (Bachmann 1).

Abb. 10. Farbstoffablagerung auf längerem Hyphenstück. Vergr. etwa 230fach

Bei der mikroskopischen Untersuchung des jungen Pilzmycels von *Cercosporina kikuchii* sind in den ersten Tagen bereits Ablagerungen des roten Pilzfarbstoffes auf den Zellwänden des Pilzmycels zu erkennen. Die einzelnen Bilder dieser Farbstoffablagerungen können dabei recht verschieden sein, wobei u. a. die Lokalisation der Farbstoff tragenden Hyphen in der Agar-Kultur, das Alter der Hyphen sowie die Reaktion des Nährbodens eine Rolle spielen. Im allgemeinen sieht man entweder eine Vielzahl von kleinen Farbstoffkörnchen bzw. -tröpfchen auf den Zellwänden (Abb. 9), oder aber ganze Hyphenstücke sind mit Farbstoffausscheidungen bedeckt (Abb. 10). Im letzten Falle befinden sich zwischen den Farbstoff tragenden Hyphenstücken solche, die völlig frei von Farbstoff sind. Bei schwächerer mikroskopischer Vergrößerung heben sich die Farbstoff tragenden Hyphenabschnitte als dunkle Striche aus dem sonst hellen Pilzmycel heraus (Abb. 11). Liegen für die Farbstoffbildung besonders günstige Bedingungen vor, so kann es auf den bereits Farbstoff tragenden Hyphenstücken zu einer weiteren Anreicherung des Farbstoffes kommen. Hierbei ist eine Kristallstruktur des Farbstoffes beson-

Abb. 11. Pilzmycel mit zahlreichen Farbstoffablagerungen wie in Abb. 9. Vergr. etwa 50fach

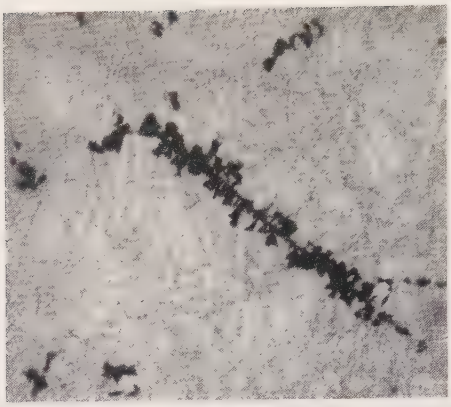


Abb. 12. Kristalline Farbstoffablagerungen auf Pilzhyphen. Vergr. etwa 230fach

ders gut zu erkennen (Abb. 12). In einigen Fällen konnten daneben große Farbstoffansammlungen in den Agar-Kulturen beobachtet werden (Abb. 13). Ob auch diese an einzelnen Hyphen entstanden waren oder ob ihre Bildung frei im Substrat erfolgt war, ließ sich nicht mit Sicherheit feststellen.

b) Bedingungen der Farbstoffbildung

Eingehende Untersuchungen über den Einfluß der Reaktion des Substrates, des Lichtes, des Sauerstoffes auf die Farbstoffbildung wurden im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt. Jedoch sollen einige Beobachtungen hierzu kurz aufgeführt werden. Entsprechend dem optimalen Mycelwachstum des Pilzes ist auch die Farbstoffbildung im sauren Bereich (pH 4 bis 6) am intensivsten. In stärker sauren bzw. stärker alkalischen Substraten hört die Farbstoffbildung ganz auf. Die Ablagerung des Farbstoffes ist nur bei Kulturbeginn und saurer Reaktion des Nährmediums möglich. Verwendet man für die Kultur des Pilzes einen physiologisch alkalischen Nährboden und stellt die Anfangsreaktion auf pH 4,5 ein, so ist innerhalb der ersten Tage eine Farbstoffablagerung in den vorher genannten Formen festzustellen. Unter dem Einfluß der ins Substrat gelangenden Stoffwechselprodukte des Pilzes sowie unter der allmählich eintretenden Reaktionsverschiebung des Substrates kann es schon innerhalb weniger Tage zu einer Auflösung der Farbstoffablagerungen kommen. Nach Eintritt der alkalischen Reaktion erfolgt keine weitere rotviolette Farbstoffablagerung auf den sich neu entwickelnden Hyphen.

Abb. 13. Größere Farbstoffansammlungen im Substrat. Vergr. etwa 230fach

Für die Form, in welcher der Farbstoff auf den Hyphen abgelagert wird, spielt offenbar die Lage der Hyphen im Substrat eine besondere Rolle. Es hat sich gezeigt, daß die kristallinen Farbstoffbildungen gerade auf den Hyphen angetroffen werden, die unmittelbar auf der Agar-Oberfläche wachsen. Diese Hyphen sind der Wirkung bzw. der Reaktionsänderung des Substrates weniger stark ausgesetzt als die in tieferen Schichten wachsenden. Dennoch werden auch diese Farbstoffablagerungen mit der Zeit auf-

gelöst und sind dann in älteren Kulturen nicht mehr auf den Hyphen anzutreffen. Lediglich die sehr kleinen körnchenförmigen Farbstoffablagerungen auf den Lufthyphen des Pilzmycels, die der auflösenden Wirkung des Substrates nicht ausgesetzt sind, bleiben auch in älteren Kulturen erhalten.

Ein wesentlicher Faktor für die Farbstoffbildung ist das Licht. Aus Dunkelkammerversuchen geht eindeutig hervor, daß Tages- oder künstliches Licht für die Farbstoffbildung notwendig ist. Kultiviert man den Pilz unter sonst günstigen Bedingungen bei Dunkelheit, so tritt keine merkliche Farbstoffbildung auf. Erst wenn man diese Kulturen, die zunächst im Dunkeln standen, ans Tageslicht bringt, ist nachträglich eine rotviolette Farbstoffbildung möglich. Ähnliche Beobachtungen sind auch an anderen Pilzen gemacht worden (Ebeling 4, Danilow 3, Bessey 2).

Neben dem Einfluß des Lichtes ist auch das Vorhandensein von Sauerstoff von Bedeutung für die Entwicklung des Pilzfarbstoffes. Während in Flüssigkeitskulturen unmittelbar an der Oberfläche innerhalb weniger Tage eine Rotviolettfärbung des Mycels einsetzt, bleibt tiefer untergetaucht wachsendes zunächst farblos. Erst bei längerer Kulturdauer kann auch dieses Mycel sich verfärben. Das dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß erst während eines längeren Zeitraumes die für die Farbstoffbildung erforderlichen Sauerstoffmengen zur Verfügung stehen. Während somit der Sauerstoff für die Farbstoffbildung offenbar von Bedeutung ist, so scheint er andererseits zu bewirken, daß der Farbstoff allmählich chemische Veränderungen erfährt. Mit zunehmendem Alter der Pilzkulturen tritt nämlich der rote Farbstoff mehr und mehr zurück. So war z. B. die Extinktion der roten alkoholischen Farbstofflösung aus zwei bis drei Monate alten Kulturen geringer als aus zwei bis drei Wochen alten. Vielleicht sind auch hier gewisse Parallelen mit anderen Pilzfarbstoffen vorhanden, die unter Sauerstoffaufnahme durch Kondensations- bzw. Polymerisationsvorgänge in sauerstoffreichere Produkte verwandelt werden.

Der Einfluß der verschiedenen Nährsubstrate auf die Farbstoffbildung wurde nicht weiter untersucht. Sie trat in Kirsch-, Hafermehl- und Glukose-Agar regelmäßig auf.

c) Eigenschaften des Pilzfarbstoffes

Der Pilzfarbstoff ist in verschiedenen organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Äther, Aceton und Chloroform löslich. Dabei tritt eine Rotfärbung der Lösungsmittel ein.

Wichtig erschien es, den Farbstoff in kristallisierter Form zu erhalten. Während dies bei der alkoholischen Extraktion aus den Samenschalen nicht gelang, konnte der Farbstoff aus den aus Reinkulturen des Pilzes hergestellten alkoholischen Extrakten nach Verdampfen des Lösungsmittels zur Kristallisation gebracht werden (Abb. 14).

Abb. 14. Farbstoffkristalle, gewonnen aus Reinkulturen des Pilzes. Vergr. etwa 230fach

Der mit der Mikroschmelzpunktmethode nach KOFLER (7) bestimmte Schmelzpunkt beträgt 208 bis 210 ° C.

In Wasser, schwachen Säuren und Petroläther ist der Farbstoff nicht bzw. sehr schwer löslich. Dagegen wird er in alkalischer Lösung unter Grünfärbung gelöst, jedoch kommt es hierbei nach einiger Zeit zu einer voluminösen Ausfällung des Farbstoffes.

Besonders auffallend ist das indikatorartige Verhalten des Pilzfarbstoffes in alkoholischen Lösungen, worauf MATSUMOTO (11) bereits hinwies. In saurem Alkohol zeigt die Farbstofflösung eine leuchtend rote Farbe, die bei Zugabe von Alkalien beim Überschreiten des Neutralpunktes in Grün umschlägt. Dieser Vorgang ist umkehrbar und läßt sich beliebig oft wiederholen.

Der aus den Kulturen und von den Samenschalen her bekannte rotviolette Farbton tritt in reiner alkoholischer Farbstofflösung nicht auf. Erst wenn man diese um ein Mehrfaches mit Wasser verdünnt, erscheint der für *Cercosporina kikuchii* so typische rotviolette Farbton wieder. Dieser bleibt auch bei geringer Reaktionsänderung zum schwach Sauren bzw. schwach Alkalischen erhalten.

Zusammenfassung

Samen von Sojabohnen, die aus amerikanischen Importen stammten, zeigten eine rotviolette Verfärbung der Samenschale. Sie beruht auf dem Befall durch den Pilz *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom., der bisher nur aus Ostasien und Amerika bekannt ist.

Der Pilz ist, solange sich die Samen im Ruhezustand befinden, in den Samenschalen lokalisiert. Erst bei der Keimung erfolgt eine Infektion des Keimlingsgewebes.

In künstlicher Kultur zeigt *Cercosporina kikuchii* im morphologischen und physiologischen Verhalten weitgehende Übereinstimmung mit den Pilzen der Gattung *Cercospora*.

In verschiedenen Nährsubstraten ruft der Pilz die gleiche Rotviolettfärbung wie auf den Samenschalen hervor. Diese ist bedingt durch die Farbstoffbildung des Pilzes.

Die Farbstoffbildung ist u. a. gebunden an eine mäßig saure Reaktion des Substrates sowie an das Vorhandensein von Licht und Sauerstoff.

In jungen Kulturen auf saurem Substrat konnte eine Farbstoffablagerung auf den Pilzhyphen in verschiedenen, z. T. kristallinen Formen beobachtet werden.

Der in verschiedenen organischen Lösungsmitteln lösliche Pilzfarbstoff wurde aus alkoholischem Mycelextrakt zur Kristallisation gebracht. Der mit der Mikroschmelzpunktmethode nach KOFLER (7) bestimmte Schmelzpunkt beträgt 208 bis 210 ° C.

Die Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Prof. Dr. BRANDENBURG durchgeführt. Für das Interesse, das er der Arbeit entgegenbracht hat, möchte ich an dieser Stelle meinen Dank sagen.

Literaturverzeichnis

1. BACHMANN, E.: Spektroskopische Untersuchungen von Pilzfarbstoffen. Wiss. Beilage zu dem Programm des Gymnasiums zu Plauen i. V. 1—28, 1886.

2. BESSEY, E.: Über die Bedingungen der Farbstoffbildung bei Fusarium. Flora **93**, 304, 1904.

3. DANILOW, A. N.: Zur Frage der Pigmentbildung bei den Pilzen. Ber. d. Dtsch. Bot. Ges. **43**, 27, 1924.

4. EBELING, R.: Über den Einfluß von Licht auf die Farbstoffbildung bei *Penicillium funicolosum* Thom. Archiv für Mikrobiologie **9**, 1—19.

5. GARDENER, M. W.: Indiana plant diseases. Proc. Indiana Acad. Sci. **35**, 237—257, 1926.

6. GROSSER, A., KUNDTNER-SCHWARZKOPF, H. und BERNHAUER, K.: Über den Einfluß der Kultivierungsbedingungen auf die Farbstoffbildung durch Penicillien-Arten. Archiv für Mikrobiologie **15**, 236—246, 1950.

7. KOFLER, L.: Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Universitätsverlag Wagner, Innsbruck 1948.

8. LEHMANN, S. G.: Soybean diseases. Fiftieth Annual Report of the North Carolina Agric. Expt. Sta., p. 95, 1928.

9. — —: Purple Stain of Soybean Seeds. Bulletin no. 369. Agric. Expt. Sta., N. C. State College, 1—11, 1950.

10. — —: Frog-eye Leaf spot of soybean caused by *Cercospora diazu* Miura. Journal of Agric. Research **XXXVI**, 811—833, 1928.

11. MATSUMOTO, T. und TOMOYASU, R.: Studies on the purple speck of soybean seed. Ann. Phytopath. Soc. Japan **1**, No. 6, 1—14, 1925. (Ref. Review of appl. Myc. **IV**, p. 714—715, 1925.)

12. RAPER, K. B. und THOM, CH.: A Manual of the Penicillia. Baltimore 1949.

13. RESÜHR, B.: Über die Bedeutung konstitutioneller Mängel für das Auftreten von Keimlingsschäden bei *Soja hispida* Moench. Ztschr. f. Pflanzenkrankheiten **51**, 65—96, 1941.

14. SCHMIDT, E. W.: Untersuchungen über die Cercospora-Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe. Z. f. Parasitenkunde **1**, 100—137, 1928.

15. STOLZE, K. W.: Beitrag zur Biologie, Epidemiologie und Bekämpfung der Blattfleckenkrankheit der Zuckerrübe. Arb. aus der Biol. Reichsanstalt **19**, 337—402, 1931.

16. SUZUKI, K.: Studies on the cause of „shihan of soybeans". Chosen Nakaiho **16**, No. 2, 24—28, 1921.

17. TOBLER, FR.: Die Flechten. G. Fischer, Jena 1934.

18. ZOPF, W.: Die Flechtenstoffe. G. Fischer, Jena 1907.

Über einen weiteren Fall gleichzeitigen Auftretens von *Dilophospora* spec. mit einem Nematoden

Von
E. Mühle, Leipzig

Mit 3 Abbildungen

Im Schrifttum ist bereits mehrfach über eine Vergesellschaftung von *Dilophospora* mit Nematoden berichtet worden. Allgemein bekannt ist das Auftreten des Erregers der Federbuschsporenkrankheit *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. (= *D. graminis* Desm.) mit dem Weizenälchen *Anguina tritici* Steinb. (1, 5, 6, 7, 11, 18, 20 u. a.). Neuerdings hat Rademacher auch beim Dinkel auf derartige Zusammenhänge aufmerksam gemacht. Während Atanasoff nachzuweisen versucht hat, daß das Weizenälchen für die Verbreitung der Federbuschsporenkrankheit von grundsätzlicher Bedeutung ist (1), Schaffnit-Wieben aber bereits diesen Sachverhalt entschieden in Abrede gestellt haben (16), wurde von Kotte dargelegt, daß der „*Dilophospora*-Pilz auch ohne Älchen die Getreidepflanzen befallen kann" und die Krankheit vor allem durch verunreinigtes Saatgut verschleppt wird (11). Diese Auffassung wird neuerdings auch von Sprague (17) vertreten.

Der Erreger der Federbuschsporenkrankheit ist nun außer an Getreidearten, von denen neben Weizen und Dinkel gelegentlich Roggen und angeblich auch Hafer befallen werden, verschiedentlich auch an einigen Nutz- und Wildgräsern festgestellt worden. Als wesentliche Wirtspflanzen sind hier insbesondere der Wiesenfuchsschwanz *Alopecurus pratensis* und das Knaulgras *Dactylis glomerata* zu nennen. Als weitere Grasarten werden u. a. Glatthafer (*Arrhenatherum elatius*), Schafschwingel (*Festuca ovina*), Rohrglanzgras (*Phalaris arundinacea*), Honiggras (*Holcus spec.*), Windhalm (*Apera spica venti*) sowie *Agropyron*-Arten erwähnt. Lindfors & Holmberg (11 a), Rainio (15) und Brummer (4) haben ihn in Finnland besonders am Lieschgras (*Phleum pratense*) festgestellt. Schließlich liegt eine Angabe von Bessey vor, nach der *Dilophospora alopecuri* auch an *Calamagrostis canadensis* beobachtet worden ist (3).

Für viele dieser Gräser ist jeweils auch ein durch den Pilz hervorgerufenes typisches Schadbild beschrieben worden. Während dieses meist an die Befallsmerkmale erinnert, wie sie vom Getreide, insbesondere von Weizen und Dinkel her bekannt sind, weist Bessey (3) darauf hin, daß bei *Calamagrostis canadensis* kleinere Anschwellungen an der Spitze der Blätter zwischen den Rippen feststellbar waren, die unabhängig von den gleichzeitig zu beobachtenden Nematodengallen angetroffen wurden.

Der von uns beobachtete Fall des Auftretens von *Dilophospora* bezieht sich auf *Calamagrostis villosa* und *Calamagrostis arundinacea*. Er verdient deshalb besondere Beachtung, weil der Pilz wieder streng an das Vorhanden-

sein eines Nematoden, und zwar eines Blattälchens gebunden war und außerhalb der Nematodengallen irgendwelche besonderen Merkmale seiner Anwesenheit nicht beobachtet werden konnten.

Unseren Feststellungen liegen folgende Beobachtungen und Untersuchungen zugrunde: Ende August 1951 wurden in einer feuchten Waldschneise oberhalb von Schierke (Harz) Halme von *Calamagrostis villosa* und *C. arundinacea* gefunden, die auf den Blättern, besonders im Bereich des Blattgrundes, langgestreckte, stark glänzende Gallen aufwiesen (Abb. 1). Bei genauerem Zusehen handelte es sich um schmale, im Durchschnitt 1 mm breite und 3 bis 9 mm lange Auftreibungen, die sich meist unmittelbar neben dem Mittelnerv der Blätter hinzogen, so daß dieser durch die Gallenbildung zur Seite gedrängt erschien. Oft lagen auch zwei bis drei Gallen dicht nebeneinander oder hintereinander. Viele dieser Gallen, besonders im Bereich des Blattgrundes, waren dunkel verfärbt. Diese Verfärbungen gingen zuweilen in Richtung der Blattspitze über die Gallen hinaus. Die unverfärbten Gallen fanden sich mehr nach der Blattspitze zu. In zahlreichen Fällen waren die Blattspreiten teilweise eingerollt und mit ihrer oft bereits vertrockneten Spitze schlingenartig in der zugehörigen Blattscheide steckengeblieben. Blütenstände waren an befallenen Pflanzen nur selten entwickelt.

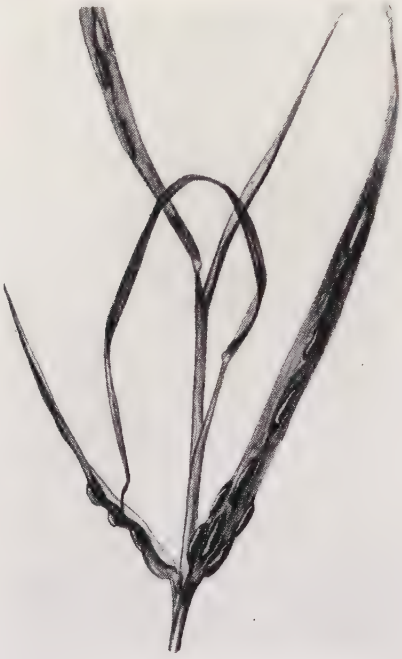


Abb. 1. Befallsbild des Blattälchens *Ditylenchus graminophilus Good.* an *Calamagrostis* spec. *(Photo: R. Herschel)*

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Gallen zeigte sich in allen Fällen ein sehr starker Nematodengehalt. Die Bestimmung der Nematoden durch GOFFART[1]) ergab, daß es sich um das von uns bereits vermutete Blattälchen *Ditylenchus graminophilus* Good. handelte, das bisher vor allem für *Agrostis* spec. genannt, an *Calamagrostis* spec. aber noch nicht beobachtet worden zu sein scheint, sofern nicht der von GOFFART (9) erwähnte Blattälchenbefall von *Calamagrostis lanceolata* auf diesen Nematoden zurückgeführt werden muß.

Neben Nematoden wurden in den dunklen Gallen in jedem Fall in großem Umfange Pyknidien (Abb. 2) und darin die typischen Sporen von *Dilophospora* spec. gefunden (Abb. 3), wie sie beim Auftreten dieses Nematoden auch an *Agrostis* spec. festgestellt worden sind. Nach weiteren Befallssymptomen, wie sie einem sonst beim Auftreten von *Dilophospora* begegnen,

[1]) Herrn Reg.-Rat Dr. GOFFART, Münster, sei auch an dieser Stelle für die Bestimmung dieses Nematoden bestens gedankt.

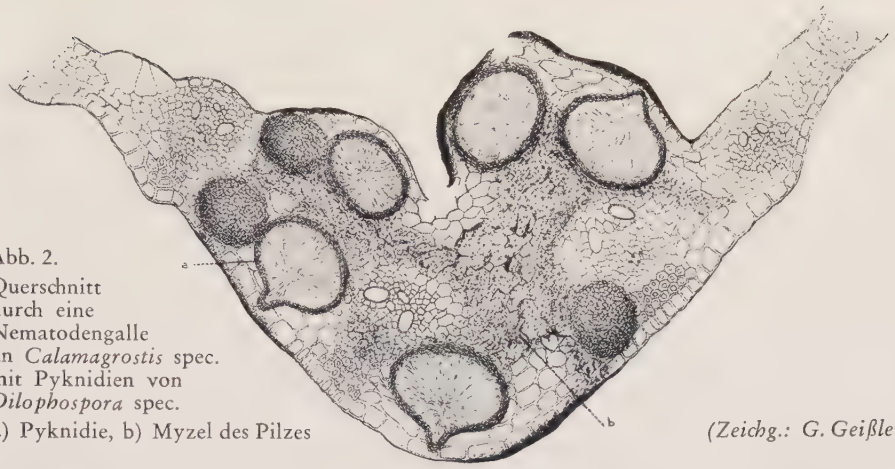


Abb. 2.
Querschnitt durch eine Nematodengalle an *Calamagrostis* spec. mit Pyknidien von *Dilophospora* spec.
a) Pyknidie, b) Myzel des Pilzes *(Zeichg.: G. Geißler)*

suchten wir an den uns verfügbaren Pflanzen vergebens, denn die oben erwähnten Schlingenbildungen dürften mit dem Nematodenbefall in Zusammenhang stehen.

Die Verfärbung der Gallen, die ja im Schrifttum in erster Linie als Begleitmerkmal für das Auftreten bestimmter Blattnematoden beschrieben wird, schien hier ausschließlich mit dem Pilzbefall in Zusammenhang zu stehen. Das ging insbesondere aus Gallen hervor, die zum Zeitpunkt der Untersuchung nur zur Hälfte verfärbt waren. An diesen waren nur im Bereich der verfärbten Teile Pilzhyphen und Sporen nachweisbar. Erstreckten sich die Verfärbungen jedoch über die Gallen hinaus, so konnten auch hier Pilzhyphen festgestellt werden.

Durch einen meiner Mitarbeiter, der mit weiteren Untersuchungen des Schadfalles beauftragt worden war, wurde Anfang September auch bei Grünbach im oberen Vogtland ein gleichzeitiger Befall von *Calamagrostis villosa* durch den Nematoden *Ditylenchus graminophilus* Good. und durch *Dilophospora* spec. beobachtet. Hier waren Gallenbildungen zum Teil auch auf den Rispenästen der in diesem Fall zahlreicher ausgebildeten Blütenstände zu beobachten. Im Bereich eines trockenen Grasstreifens an einem Grabenrand waren darüber hinaus die Blattspreiten und Blattscheiden von dunkelfarbigen, unscharf abgegrenzten Flecken von 4 bis 6 mm Länge bedeckt. Eine Zugehörigkeit des Erregers dieser Flecken zu *Dilophospora* konnte jedoch von uns nicht festgestellt werden. Auch Nematoden waren im Bereich dieser Flecken nicht nachweisbar.

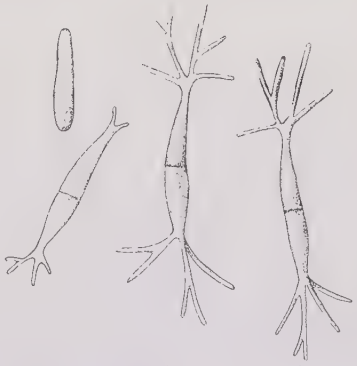


Abb. 3. Einzelsporen aus den in Blattgallen festgestellten Pyknidien von *Dilophospora* spec. *(Zeichg.: G. Geißler)*

Aus unseren Beobachtungen kann geschlossen werden, daß zwischen *Dilophospora* spec. und Nematoden durchaus unmittelbare Beziehungen bestehen und daß das Erscheinen

dieses Pilzes eng mit dem Auftreten von Nematoden gekoppelt sein kann. Wenn wir diese Erkenntnisse auf das oft gemeinsame Auftreten von *Anguina tritici* Steinb. und *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. an Getreide, insbesondere an Weizen und Dinkel beziehen, so bedeuten sie eine Stütze für die Auffassung, daß der Erreger der Federbuschsporenkrankheit wohl von Nematoden verschleppt werden kann und dann gemeinsam mit diesen auftritt. Damit soll aber nicht abgestritten werden, daß *Dilophospora* unter bestimmten Voraussetzungen auch selbständig die Pflanzen zu befallen vermag. Diese Einschränkung muß besonders deshalb gemacht werden, weil noch nicht festgestellt werden konnte, ob es sich in allen bisher beobachteten Fällen immer um die gleiche Art *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. gehandelt hat.

Literaturverzeichnis

1. Atanasoff, D.: The *Dilophospora* disease of cereals. Phytopathology 15, 1925, 11—40.
2. Becker, A.: Über das Auftreten der Federbuschsporenkrankheit im Rheinland. Gesunde Pflanzen 3, 1951, 219—220.
3. Bessey, E. A.: *Dilophospora alopecuri.* Journ. of Mycol., 12, 1906, 57—58.
4. Brummer, V.: Beobachtungen über die in Finnland auf dem Timothee auftretenden Pilzkrankheiten. Maataloustieteellinen Aikakauskirja 9, 1937, 165—180.
5. Fron, G.: La maladie des épis des blé. Journ. Agric. Prat. n. s. 76, 1912, 240—242.
6. Frickhinger, H. W.: Die Federbuschsporenkrankheit. Sonderdruck Nr. 9, 1936, „Ratschläge für Haus/Garten/Feld" A.
7. — —: Die Federbuschsporenkrankheit. D. L. P. 66, 1939, 176.
8. Gante: Zum Auftreten der Federbuschsporenkrankheit des Getreides. Ang. Bot. 10, 1928, 383.
9. Goffart, H.: Nematoden der Kulturpflanzen Europas. Berlin 1951.
10. Kessler, B.: Zum Auftreten der Federbuschsporenkrankheit in der Rheinprovinz. Nachrbl. f. d. Dtsch. Pflschutzdienst 1, 1921, 28.
11. Kotte, W.: Die Federbuschsporenkrankheit des Getreides. Nachr. üb. Schädlingsbek. 9, 1934, 170—174.

11a. Lindfors, Th. & Holmberg, Ch.: Pflanzenkrankheiten in Schweden 1933—1937. Stat. Växt. anst. Medd. 33, Stockholm 1941.

12. N. N.: in: Gesunde Pflanzen 3, 1951, 243.
13. Pape, H.: Stärkeres Auftreten der Federbuschsporenkrankheit (*Dilophospora graminis* Desm.) des Getreides in Deutschland. Nachrbl. f. d. Dtsch. Pflschutzdienst 1, 1921, 21—22.
14. Rademacher, B.: Auftreten und Bekämpfung des Weizenälchens (*Anguina tritici* Steinb.) beim Dinkel (*Triticum spelta*) im Zusammenhang mit der Federbuschsporenkrankheit (*Dilophospora graminis* Desm.) und einer Bakteriose. Zeitschr. f. Pflanzenkrkh. u. Pflanzenschutz 57, 1950, 334—343.
15. Rainio, A. J.: Über die *Dilophospora*-Krankheit von *Phleum pratense* L. und *Alopecurus pratensis* L. Valt. Maatalouskoet. Julk. 87, 1936, 1—32.
16. Schaffnit, E. und Wieben, M.: Untersuchungen über den Erreger der Federbuschsporenkrankheit *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr. Forsch. a. d. Gebiete d. Pflanzenkrh. u. d. Immunität im Pflanzenreich: H. 5, 1928, 5—38.
17. Sprague, R.: Diseases of Cereals and Grasses in North-America. New York 1950.
18. Stebler, F. G., Volkart, A. und Grisch, A.: 39. Jahresbericht der Schweizer Samenuntersuchungs- und Versuchsanstalt Oerlikon Zürich. Ldw. Jahrb. d. Schweiz 31, 1917, 268—301.
19. Stieljes, D.: *Dilophospora*-ziekte van granen en grassen. Tijdschr. over Plantenziekten 39, 1933, 200—206.
20. Störmer, K.: Über eigentümliche, durch gleichzeitiges Auftreten der Radekorn- und Federbuschsporenkrankheit verursachte Mißbildungen beim Spelz. Prakt. Bl. f. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz 2, 1904, 75—78.

Aus der Eidgenössischen Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil
Direktor: Prof. Dr. F. Kobel

Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben[1])

1. Mitteilung

Von

Lukas Stalder

Mit 11 Abbildungen

Inhalt: A. Allgemeiner Teil. 1. Der heutige Stand der direkten *Botrytis*-Bekämpfung im Weinbau; 2. Problemstellung. — B. Experimenteller Teil. I. Kapitel: Das Meßgerät. 1. Beschreibung der Apparatur; 2. Der Meßvorgang. II. Kapitel: Die Veränderung des Perforationswiderstandes der Beerenoberhaut im Verlauf der Vegetationsperiode und ihr Einfluß auf die Infektionshäufigkeit. 1. Die Versuchsmethode; 2. Die Ergebnisse. III. Kapitel: Die Auswirkung spezifischer Sorteneigentümlichkeiten auf die Infektionshäufigkeit durch *Botrytis cinerea*. 1. Die Infektionsverhältnisse bei der Sorte Riesling × Silvaner; 2. Die Infektionsverhältnisse bei der Sorte Gamais précoce. IV. Kapitel: Der Grad der Erkrankungsdisposition zweier Traubensorten gegenüber *Botrytis cinerea* und die Veränderung desselben im Verlauf der Vegetationsperiode. 1. Allgemeines; 2. Die Versuchsmethode; 3. Die Ergebnisse. V. Kapitel: Die Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz der Sorte Blauburgunder und der Sorte Gutedel. 1. Mechanische Hindernisse und Abwehrreaktionen als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz, a) Die Versuchsmethode. Das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf abgetöteten Traubenbeeren, b) Die Ergebnisse; 2. Ungeeignetes Nährsubstrat oder pilzhemmende Stoffe als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz, a) Das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf Traubenpreßsaft, b) Der Zuckergehalt des Traubensaftes als Ursache für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz und seine Veränderung während der Vegetationsperiode, c) Der Gesamtsäuregehalt und der pH-Wert des Traubensaftes als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz und ihre Veränderung während der Vegetationsperiode. — C. Diskussion einiger Ergebnisse und Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

A. Allgemeiner Teil

1. Der heutige Stand der direkten *Botrytis*-Bekämpfung im Weinbau

Die durch *Botrytis cinerea* Pers. an den Trauben hervorgerufene Graufäule ist schon lange bekannt. Besonders bei regnerischer Witterung gelingt

[1]) Die Durchführung der vorliegenden Arbeit wurde durch einen Kredit aus dem Schweizerischen Weinbaufonds ermöglicht. Den zuständigen Behörden sei an dieser Stelle bestens gedankt. Ebenfalls möchte ich es nicht unterlassen, Herrn Dr. S. Blumer für die wertvollen Anregungen zu danken, welche wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

es dem Pilz, sich während der Reifeperiode der Beeren rasch auszubreiten und in kürzester Zeit die Hoffnung auf eine gute Ernte zu vernichten. Bei uns sind die Sorten Riesling × Silvaner und Blauburgunder besonders anfällig, während sich zum Beispiel die Sorten Gutedel und Elbling als widerstandsfähiger erweisen. Die guten Eigenschaften des Pilzes, nämlich die sogenannte Edelfäule an den Trauben zu erzeugen (Zuckeranreicherung bei gleichzeitigem Säureabbau, MÜLLER-THURGAU 1888), machen sich unter unseren Klimaverhältnissen recht wenig bemerkbar, so daß *Botrytis cinerea* bei uns viel mehr schadet als nützt. Aus diesem Grund wurde schon seit Jahrzehnten, nicht nur bei uns, sondern in den meisten europäischen Weinbaugebieten Versuche unternommen, diese Krankheit zu bekämpfen. Als man erkannte, daß man allein mit allgemeinen Kulturmaßnahmen, wie Schnitt- und Laubarbeiten, Düngung, Unkrautbekämpfung, Entfernen der faulen Rebenteile aus dem Rebberg, richtige Wahl des Lesezeitpunktes usw. (ISTVANFFI 1907, KRAMER 1926, ZILLIG 1938, BRANAS 1946) der Krankheit in der Regel nicht vorzubeugen vermochte, versuchte man dem Erreger vorerst mit anorganischen und später mit organischen Fungiziden beizukommen.

Kupferverbindungen, wie die gegen die Peronospora sehr wirksame Bordeauxbrühe, führten jedoch zu keinem praktischen Erfolg. WILHELM (1944) glaubte dieses Versagen zum Teil auf eine Inaktivierung des Kupfers durch den auf verletzten Beeren austretenden Traubensaft zurückführen zu können, was er auch in seinen Versuchen nachwies. Diese Frage wurde von BIEDERMANN und MÜLLER (1951) aufgegriffen, welche eindeutig feststellten, daß Traubensaft und Blattdialysate die fungizide Wirkung von Kupfersulfat, wie auch diejenige der Bordeauxbrühe herabsetzen, indem durch Komplexbildungen das Kupfer gebunden und unwirksam gemacht wird. Zusätze von Schmierseife oder Krotonoelschmierseife, wie sie von KRAMER 1926, HENGL 1933, ZILLIG 1938, NIEMEYER 1938 und andern empfohlen wurden, vermochten die fungizide Wirkung der Bordeauxbrühe gegen *Botrytis* nur unwesentlich zu verbessern. Die leichte Reduktion des Befalles nach Zusatz solcher Mittel scheint lediglich auf einer Verbesserung des Netzvermögens zu beruhen, da weder WILHELM 1944 noch MÜLLER-STOLL 1950 in Laboratoriumsversuchen eine toxische Wirkung solcher Zusatzmittel auf *Botrytis*-konidien feststellen konnten. Zudem wurde gelegentlich nach Anwendung derartiger Präparate eine Verzögerung der Reife beobachtet.

Andere anorganische Verbindungen, wie Natriumbisulfit (BABO und MACH 1924), Salizylsäure (HENGL und ARTHOLD 1936), Kalialaun, Cadmiumbisulfat, Sublimat (WILHELM 1944) usw. erwiesen sich in der Praxis als unbrauchbar. Zu erwähnen sind noch die neuesten Versuche von WILHELM 1952, welcher in Laboratoriums- und Freilandversuchen eine ganze Reihe von Seifen-, Seifenersatz-, Netz- und Haftmitteln untersuchte, welche aber alle für die Bekämpfung der *Botrytis*-Fäule nicht genügten.

Versuche zur direkten *Botrytis*-Bekämpfung mit organischen Verbindungen wurden von STAEHLIN und LEYVRAZ 1946, von BLUMER 1947 und von BLUMER und GONDEK 1946 durchgeführt. Während die beiden erstgenannten

Tabelle 1

Spritzmittel	Datum der Auszählungen								
	Anzahl Trauben	Befalls-summe	Befalls-prozente	Anzahl Trauben	Befalls-summe	Befalls-prozente	Anzahl Trauben	Befalls-summe	Befalls-prozente
	8. August			22. August			5. September		
I. Sorte Gamais précoce									
Datum der Behandlung 19. Juli									
Kontrolle	272	72	6,6	254	314	30,9	220	555	63,0
SR 406 0,5 %	153	27	4,4	140	129	23,0	141	240	40,7
Organ. Mittel X 0,3 %	81	6	1,8	81	44	13,5	81	85	28,0
Bordeauxbrühe 2 %	173	24	3,4	159	132	20,9	168	267	39,8
Bordeauxbrühe 2 % + Trytinit 0,2 %	100	15	3,7	86	73	21,2	90	169	46,9
				22. August			5. September		
II. Sorte Frühburgunder									
Datum der Behandlungen 9. und 23. August									
Kontrolle				206	148	17,9	199	383	48,0
SR 406 0,5 %				204	111	13,8	177	254	35,6
Organisches Mittel X 0,3 %				211	113	13,4	203	298	36,5
Bordeauxbrühe 2 %				213	166	19,3	204	350	42,9
Bordeauxbrühe 2 % + Trytinit 0,2 %				219	116	11,3	208	281	33,7
				5. September			17. September		
III. Sorte Riesling × Silvaner									
Datum der Behandlungen 9. und 23. August									
Kontrolle				168	291	43,3	324	1036	79,9
SR 406 0,5 %				205	220	26,8	242	636	66,5
Organisches Mittel X 0,3 %				156	214	34,2	202	622	77,4
Bordeauxbrühe 2 %				194	339	43,6	194	623	85,8
Bordeauxbrühe 2 % + Trytinit 0,2 %				137	205	37,5	177	561	80,7

Autoren mit Organol (organisches Schwefelpräparat) und Tumex (Oxychinolin-Präparat) wesentliche Erfolge erzielten, gelangte BLUMER nach dreijährigen Laboratoriums- und Freilandversuchen zum Schlusse, daß weder Oxychinolin- noch Thiurampräparate zur direkten Bekämpfung der Graufäule empfohlen werden können, da einerseits ihre Wirkung unsicher und im hohen Maße durch den Zeitpunkt der Behandlung bestimmt ist und daß andererseits an den behandelten Trauben andere Pilze, besonders der gefürchtete Grünschimmel *(Penicillium)* in vermehrtem Maße auftreten kann. Ebenfalls ist nach WILHELM 1952 die fungizide Wirkung des organischen Mittels Debena (Dibutyl-naphtalinsulfosaures Natrium) und diejenige des organischen Mittels E 605 (Phosphorsäurethiophosphatester) gegen *Botrytis*-Konidien zu gering, um gegen die Graufäule mit Erfolg angewendet werden zu können.

Um die Frage der Wirksamkeit organischer Präparate gegen *Botrytis cinerea* abzuklären, wurden auch dieses Jahr weitere Mittel (SR 406 und organisches Mittel X) geprüft. Im Zusammenhang mit der offiziellen Mittelprüfung wurde noch ein Schmierseifenersatzmittel (Trytinit-Kalkhof) in die Versuche miteinbezogen. Als Vergleichsbasis diente die Bordeauxbrühe. Diese Mittel wurden an drei anfälligen Sorten geprüft, nämlich an den Sorten Gamais précoce, Frühburgunder und Riesling × Silvaner. Die Trauben wurden mit der Spritzbrühe tüchtig benetzt. Die Auswertung des Befalles erfolgte nach der Bonitierungsmethode von TOWNSEND und HEUBERGER, wobei die befallenen Trauben in fünf Befallsklassen eingeteilt wurden.

Befallsklasse 0 keine kranken Beeren.
» 1 einzelne Beeren, aber höchstens ein Viertel der ganzen Traube befallen.
» 2 ein Viertel bis die Hälfte der ganzen Traube befallen.
» 3 die Hälfte bis drei Viertel der ganzen Traube befallen.
» 4 drei Viertel bis die ganze Traube befallen.

Für jede Versuchsreihe wurde durch Zusammenzählen dieser Einzelwerte die Befallssumme (effektiver Befall) ermittelt und nach der Formel: $\frac{\text{Effektiver Befall}}{\text{Maximaler Befall}} \cdot 100$ die Befallsprozente berechnet. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Durch die extremen Witterungsverhältnisse während der diesjährigen Vegetationsperiode wurden maximale Anforderungen an die zu prüfenden Mittel gestellt. Während der heißen und relativ niederschlagsarmen Periode des Monats Juli und der ersten Hälfte des Monats August reiften die Trauben, vor allem diejenigen der frühen Sorten Gamais précoce und Frühburgunder, rasch heran, so daß die andauernden Regenfälle während der zweiten Hälfte des Monats August und während des ganzen Septembers dem Erreger optimale Entwicklungsbedingungen schufen. Aus den in Tabelle 1 zusammengestellten Ergebnissen geht eindeutig hervor, daß keines der geprüften Mittel für eine erfolgreiche *Botrytis*-Bekämpfung in Frage kommt. Dieses Versagen der verwendeten Spritzmittel kommt vor allem bei der Sorte Riesling

× Silvaner bei der Auszählung vom 17. September zum Ausdruck. Nach der Behandlung mit Bordeauxbrühe 2 % und Bordeauxbrühe 2 % + Trytinit Kalkhof 0,2 % war der Anteil des faulen Traubengutes sogar größer und nach der Behandlung mit den beiden organischen Präparaten nur unwesentlich geringer als derjenige der Kontrollreihen. Außerdem ist zu erwähnen, daß das Mittel SR 406 bei der Sorte Gamais précoce den Befall durch Essigbakterien wesentlich gefördert hat (8,5 % gegenüber 5,9 % bei der Kontrolle). Dasselbe trifft für das organische Präparat X bei der Sorte Frühburgunder zu (19,8 % gegenüber 10 % bei der Kontrolle).

Auf Grund dieser Ergebnisse und den Mißerfolgen, welche bis heute auf dem Gebiet der direkten *Botrytis*-Bekämpfung erzielt wurden, kann gesagt werden, daß wir bis heute kein Mittel, weder anorganischer noch organischer Natur besitzen, welches unter unseren Klimaverhältnissen gegen *Botrytis* erfolgreich angewendet werden könnte.

2. Problemstellung

Angesichts dieser Tatsache erhebt sich die Frage, warum viele dieser Präparate, trotzdem sie sich in vitro und bei Infektionsversuchen im Laboratorium gegen *Botrytis cinerea* als äußerst fungizid erweisen, in der Praxis unbrauchbar sind.

Nach Wilhelm 1944 vermag eine Kupfersulfatkonzentration von 0,0001 bis 0,00005 % die Sporenkeimung zu verhindern. Die Empfindlichkeit der *Botrytis*-Sporen gegen Kupfersulfat ist also ähnlich derjenigen der *Peronospora*-sporen (Keimungshemmung bei 0,000046 % $CuSO_4$). Ein unterschiedliches Verhalten verschiedener Sporenherkünfte war nicht wahrzunehmen. Nach Angaben von Blumer 1947 zeigten verschiedene organische Präparate bei Infektionsversuchen im Laboratorium eine recht gute Wirkung. In einem seiner Versuche wurden nach einer Behandlung der Trauben mit Tumex 0 %, mit Amarex 15 % und mit Travacid und Organol 22 % der Beeren befallen, gegenüber hundertprozentigem Befall bei unbehandelten Trauben. Bei Spritzversuchen im Rebberg wurde hingegen mit Tumex der Befall nur um 27 % und mit Organol um 33 % reduziert. Derselbe Autor erzielte in unveröffentlichten Versuchen mit dem organischen Mittel SR 406 unter Laboratoriumsbedingungen eine Wirkung von 81 %, im Freiland hingegen nur eine solche von 33 bis 39 %.

Wilhelm 1944 untersuchte dieses Problem, wie schon teilweise auf Seite 316 erwähnt, indem er sich auf das Verhalten des Erregers stützte. Er zeigte in seinen Versuchen, daß die Infektionshäufigkeit nicht nur an verletzten, sondern auch an unverletzten Beeren stark ansteigt, wenn man die Sporen anstatt in Wasser, in Zuckerlösung, in Traubensaft oder in einem wässerigen Auszug von grünen Rebentrieben nebst Blättern keimen läßt, unter Bedingungen also, wie sie im Freiland vor allem an reifen Trauben verwirklicht sind. Nebst anderen Ursachen führte er diese Tatsache darauf zurück, daß der Pilz in solchem Keimungssubstrat „erstarkt" und deshalb besser befähigt ist, die unverletzte Kutikula zu durchbrechen.

Für das Zustandekommen einer Infektion sind aber nach GÄUMANN 1951 nicht allein der Erreger, seine parasitische Eignung und die durch Umwelteinflüsse hervorgerufenen Veränderungen seines Infektionsvermögens maßgebend, sondern ebenso sehr die momentane Infektionsbereitschaft des Wirtes. Es ist also gut möglich, daß sich von der Wirtsseite her während des Reifeprozesses die Infektionsbedingungen für *Botrytis cinerea* so gestalten, daß die fungizide Wirkung chemischer Verbindungen nur teilweise oder gar nicht zur Auswirkung gelangen kann.

Aus den Beobachtungen von BLACKMAN und WELSFORD 1916, welche den Infektionsvorgang von *Botrytis cinerea* an Blättern von *Vicia Faba* untersuchten, geht hervor, daß die Keimschläuche die Kutikula durch rein mechanischen Druck durchbrechen. Erst wenn der Pilz in die subkutikulären Zellschichten eingedrungen ist, können seine enzymatischen Ausscheidungen in Aktion treten. Zu den gleichen Ergebnissen gelangte BROWN 1915 und 1916, welcher nachwies, daß Extraktstoffe aus *Botrytis*-Keimschläuchen keine chemische Veränderung der Kutikula von Salatblättern hervorzurufen vermögen, hingegen die Epidermiszellen zerstören. Ebenfalls vermögen diese Stoffe nicht, durch die Kutikula hindurch zu diffundieren. Der Bau der Beerenoberhaut scheint also für das Zustandekommen einer Infektion von wesentlicher Bedeutung zu sein. Folgende Fragen stellen sich in den Vordergrund:

a) Sind diese Verhältnisse, wie sie an *Vicia Faba* und an Salatblättern gefunden wurden, auch auf Traubenbeeren übertragbar?
b) Ist die Erhöhung der Infektionsanfälligkeit mit fortschreitender Reife der Beeren auf eine Schwächung der Beerenoberhaut zurückzuführen?
c) Können bei infektionsanfälligen und infektionsresistenteren Traubensorten Festigkeitsunterschiede im Bau der Oberhaut festgestellt werden?

Um diese Fragen prüfen zu können, ist es notwendig, eine Methode zu finden, mit welcher es möglich ist, die Festigkeit der Beerenoberhaut zu messen.

Schon MYOSHI 1895 führte solche Messungen an künstlichen und natürlichen Häuten durch, indem er sie mit einer Glasnadel (Spitze 0,2 mm Durchmesser) perforierte und das Gewicht feststellte, welches notwendig war, um die Glasnadel durch diese Häute hindurchzudrücken. An Hand von Versuchen mit dünnen Goldfolien konnte er nachweisen, daß die Keimschläuche von *Botrytis cinerea* einen Druck von 0,1 at. ausüben. Diese Methode wurde von HAWKINS und RODNEY 1919 und von ROSENBAUM und SANDO 1920 weiterentwickelt, welche die Glasnadel an eine abgeänderte Joly-Waage (Federwaage) hängten und ebenfalls mit einer rein mechanischen Vorrichtung den Perforationswiderstand von Kartoffelknollen bzw. von Tomaten feststellten.

In Tastversuchen zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede bezüglich des Perforationswiderstandes innerhalb derselben Traubensorte, welche in erster Linie auf die unterschiedliche Reifegeschwindigkeit der einzelnen Trauben zurückzuführen waren. Ja selbst an ein und derselben Beere waren

die gemessenen Werte in der apikalen Region meist größer als zum Beispiel im äquatorialen oder distalen Bereich der Beerenoberfläche. Wegen der erheblichen Streuungen konnten gesicherte Werte nur durch eine Vielzahl von Messungen an möglichst vielen Proben erwartet werden.

Es stellte sich nun die Aufgabe, eine sehr leistungsfähige Apparatur zu entwickeln, welche es erlaubt, in kürzester Zeit eine große Anzahl von Messungen durchzuführen. Es gelang, eine befriedigende Meßmethode zu finden, welche den Anforderungen der vorliegenden Untersuchungen genügte. Ich möchte es an dieser Stelle nicht unterlassen, meinem Bruder, Herrn Peter Stalder, Elektromechaniker, zur Zeit am Institut für spezielle Botanik der ETH., welcher mir bei der Konstruktion des Apparates in uneigennütziger Weise mit Rat und Tat zur Seite gestanden ist, meinen besten Dank auszusprechen.

B. Experimenteller Teil

I. Kapitel: Das Meßgerät

1. Beschreibung der Apparatur

Der für die Messungen verwendete Apparat besteht aus einem mechanischen und einem elektrischen Teil. Der Ständer mit dem Auflagetisch, Magnetgehäuse und Aufhängevorrichtung für den Nadelhalter, sowie der Instrumentenkasten wurde von der Firma A. Vetterli in Wädenswil her-

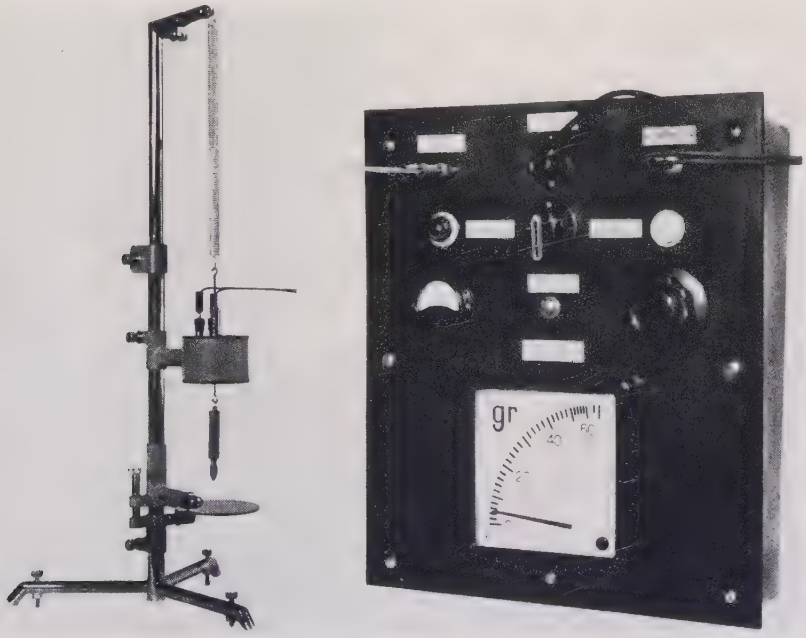


Abb. 1. Gesamtansicht des Druckmeßapparates

gestellt, während der elektrische Teil (Berechnung der Instrumente, Wickeln der Magnetspule, Verdrahtungsarbeiten usw.) von Herrn P. STALDER angefertigt wurde. Die Hauptbestandteile des Ständers sind die folgenden (vgl. Abb. 1 und 2):

Der Auflagetisch (1): Er wurde aus einer runden, rostfreien Stahlplatte hergestellt, die nach allen drei Richtungen verschoben werden kann. Wird die Klemmvorrichtung (2) gelöst, kann der Tisch sowohl in der vertikalen Richtung gehoben oder gesenkt, wie auch in der horizontalen Richtung nach links und rechts geschwenkt werden. Die Feineinstellung nach oben und unten kann an der Stellschraube (3) und der Auszug in der Horizontalen durch Betätigung der Klemmschraube (4) vorgenommen werden.

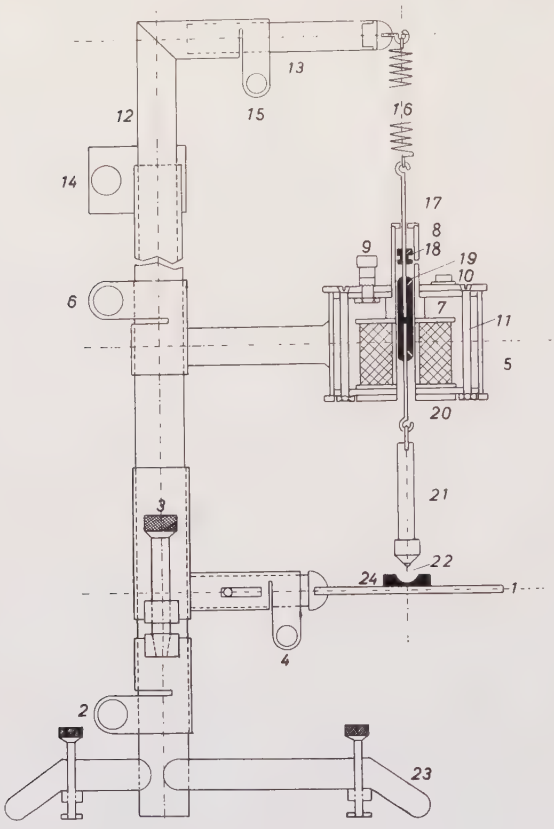


Abb. 2. Konstruktionsskizze. Der Ständer und seine Bestandteile. Maßstab 1 : 4. Erklärungen im Text

Das Magnetgehäuse (5): Es kann durch Betätigung der Klemmschraube (6) in der vertikalen Richtung verstellt und in der horizontalen Richtung nach links und rechts geschwenkt werden. Es enthält im Innern die Magnetspule (7). Zwischen der Spule und dem oberen Gehäusedeckel ist der Aufsatz für die Visiervorrichtung (8) eingeklemmt. Auf dem oberen Gehäusedeckel sind die beiden Anschlußbuchsen (9) für die Magnetspule und eine Dosenlibelle (10) angebracht. Der obere und der untere Gehäusedeckel werden durch drei Schrauben (11) auf das Gehäuse gepreßt, wodurch die Magnetspule und der Aufsatz für die Visiervorrichtung festgeklemmt werden.

Die Aufhängevorrichtung für den Magnetkern und den Nadelhalter besteht aus folgenden Teilen:

a) den beiden Auszugsrohren (12 und 13),

b) der Feder (16), welche aus Federstahldraht von 0,6 mm Durchmesser angefertigt wurde, einen Durchmesser von 13 mm aufweist und etwa 130 Windungen besitzt,

c) einem Messinghaken (17), welcher am unteren Ende der Feder eingehängt ist und an welchem mit Hilfe von Madenschräubchen die Visiermarke (18) und der bewegliche Magnetkern (19) befestigt sind,

d) einem zweiten Messinghaken (20), an welchem der etwa 75 g schwere Nadelhalter (21) angehängt ist,

e) der Nadel (22), welche die Beerenhaut perforiert. Sie ragt etwa 2 bis 2,5 mm unten am Halterkopf heraus und besteht aus Klaviersaitendraht von 0,1 mm Durchmesser.

Das ganze System kann durch Betätigung der beiden Klemmschrauben (14 und 15) nach allen drei Richtungen bewegt werden.

Sowohl Hawkins und Rodney 1919 als auch Rosenbaum und Sando 1920 verwendeten gemäß der Methode von Myoshi 1895 für ihre Untersuchungen Glasnadeln, welche unten an der Spitze leicht abgerundet waren. Weil so dünne Glasnadeln aber leicht abbrechen können, und es vermutlich nicht einfach ist, solche von genau gleichem Durchmesser und unten von genau gleicher Rundung wieder herzustellen, wurde für die vorliegenden Untersuchungen, wie schon erwähnt, Klaviersaitendraht verwendet. Die Spitze wurde unten nicht abgerundet, sondern plangeschliffen. Rostfreier Stahl erwies sich, da dieser zu weich ist, als unbrauchbar. Infolge der beim nicht rostfreien Stahl auftretenden Korrosionen war es notwendig, nach jeder Versuchsserie (etwa 400 Messungen) die gebrauchte Spitze wegzuschneiden und den Draht unter der Binokularlupe mit Hilfe eines feinen Abzugsteinchens wieder nachzuschleifen, eine Maßnahme, welche mit einiger Übung keine großen Schwierigkeiten verursachte.

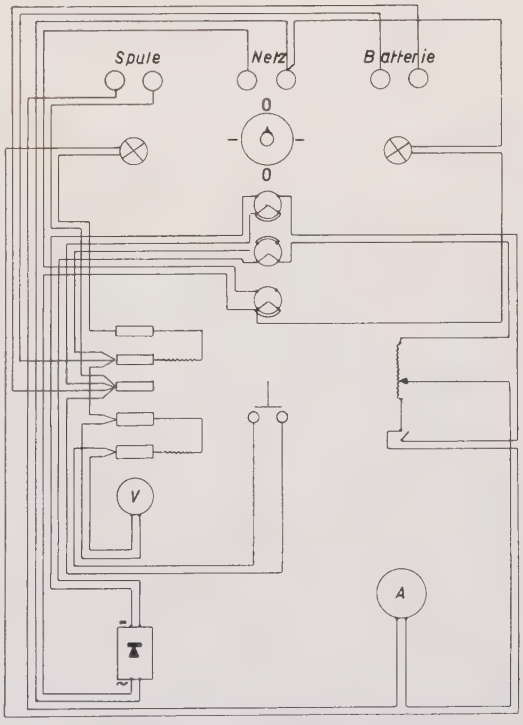


Abb. 3. Verdrahtungsschema

Der Ständer ruht auf drei Stativfüßen, an deren Ende je eine Stellschraube angebracht ist, mit welchen es möglich ist, die vertikale Stellung des Apparates je nach der Unterlage zu korrigieren. Es ist wichtig, daß das System Visiermarke-Magnetkern nicht an der Innenseite des Visieraufsatzes und der Magnetspule streift, sondern frei hängt. Die Stellung des Apparates

kann jederzeit an der Dosenlibelle auf dem oberen Gehäusedeckel kontrolliert werden.

Im Instrumentenkasten sind folgende elektrische Meßinstrumente und Geräte eingebaut (vgl. Abb. 1 und 3):

a) Das Potentiometer

Verwendet wurde der Ringwiderstand (Kupferdrahtwicklungen) Typ RW 75 (etwa 3 Ohm, 3 Amp.) der Firma Ruhstrat in Göttingen. An diesen Widerstand wurde ein Schalter montiert, welcher bei Betätigung des Drehknopfes die Stromzufuhr automatisch ein- und ausschaltet.

b) Das Ampèremeter

Eingebaut wurde ein Dreheisen-Quadrant-Ampèremeter der Firma Staub & Co. in Richterswil (Elmes) mit einem Meßbereich von 0 bis 3 Amp.

c) Übrige Geräte

Die elektrische Energie wird von einer Oerlikoner Akkumulatorenbatterie (6 V und 10 Amp.) geliefert, welche mit einem im Instrumentenkasten eingebauten Kleinladegerät (Typ GB 6/3) der Firma Standard AG in Zürich aufgeladen werden kann.

Der Ladezustand der Batterie kann jederzeit mit Hilfe eines selbstgewickelten Widerstandes von etwa 0,3 Ohm kontrolliert werden, mit welchem man über einen hochbelastbaren Druckkontakt kurzzeitig 20 Ampère entziehen kann. Ist die Batterie fast entladen, so fällt in diesem Moment ihre Spannung zusammen, was auf einem gleichzeitig dazugeschalteten Voltmeter (Typ KD 64, 0 bis 10 V) registriert wird.

Für das Ein- und Ausschalten des Apparates sowie für das Umstellen auf „Laden" oder „Messen" wurde ein dreipoliger Combi-Umschalter der Firma Cardy in Genf verwendet.

2. Der Meßvorgang

Die zu untersuchende Traubenbeere wird in einen speziellen Auflagering (24) gelegt und dieser direkt unter die Nadel auf den beweglichen Tisch gestellt. Durch Betätigung der Stellschraube (3) wird der Tisch gehoben, bis die Nadelspitze die Beerenoberhaut berührt, was durch ein leichtes Heben der Visiermarke angezeigt und durch den Visierschlitz sofort beobachtet werden kann. Es ist äußerst wichtig, daß vor Beginn der Messung die Nadel die Beerenoberhaut berührt. Ist dies nicht der Fall, so legt der Magnetkern, bevor der eigentliche Druck auf die Beerenhaut einsetzt, einen gewissen Weg zurück, der je nach der fehlerhaften Einstellung größer oder kleiner sein kann. Der Magnetkern taucht tiefer in das Magnetfeld ein, so daß sich der Perforationsvorgang unter ganz anderen Kräfteverhältnissen abspielt. Dasselbe ist auch dann der Fall, wenn der Tisch zu weit nach oben geschraubt wird, so daß die Nadelspitze auf der Beerenoberhaut aufsteht, die Feder entlastet wird, was zur Folge hat, daß sich der Magnetkern noch oben verschiebt.

Aus den angeführten Gründen ist es notwendig, daß die Eintauchtiefe des Magnetkernes in die Spule vor jeder Versuchsserie die gleiche ist. Da unter dem Einfluß von Temperaturschwankungen die Aufhängefeder sich dehnt oder verkürzt, ist es notwendig, vor dem Meßbeginn, wie auch von Zeit zu Zeit während des Messens, die Stellung des Magnetkernes an Hand der Visiermarke zu kontrollieren, und wenn notwendig, durch Heben oder Senken des Magnetgehäuses oder der Aufhängevorrichtung die entsprechende Korrektur anzubringen.

Sind alle diese Maßnahmen getroffen, kann mit dem Messen begonnen werden. Durch das Aufdrehen des Potentiometers, was eine stetige Zunahme der Stromstärke zur Folge hat, beginnt sich in und um die Magnetspule ein immer stärker werdendes Magnetfeld aufzubauen. Der Magnetkern erfährt demzufolge, ohne einen meßbaren Weg zurückzulegen, einen stetig stärker werdenden Zug nach unten, wodurch der etwa 75 g schwere Nadelhalter mit der vorstehenden Nadel langsam auf sein eigenes Gewicht abgestellt wird. Die Stromstärke wird so lange erhöht, bis der auf die Beerenoberhaut einwirkende Druck genügt, um diese zu perforieren, was durch einen deutlichen Ruck des ganzen Aufhängesystems an der Visiermarke ersichtlich ist. Da der Apparat mit Hilfe einer genauen Waage geeicht wurde, kann auf dem Ampèremeter direkt der Druck in Gramm abgelesen werden, welcher notwendig war, um die Traubenhaut zu durchstechen.

Die Ablesegenauigkeit des Ampèremeters beträgt 0,5 g. Natürlich kann diese jederzeit mit Leichtigkeit um ein Vielfaches erhöht werden, indem man den Meßbereich durch den Einbau von Vorschaltwiderständen ausdehnt, was sich aber wegen der relativ hohen Streuung der Meßwerte (bis zu 10 %), bedingt durch den unterschiedlichen Perforationswiderstand der Beeren innerhalb derselben Sorte, als überflüssig erwiesen hat. Der maximale Druck, welcher im Verlauf der Untersuchungen gemessen wurde, betrug 59 g, der minimale Druck 12,5 g. Der regelmäßige Verlauf der Kurven in Abb. 5 (einzige Ausnahme bei der Sorte Gutedel am 5. August) spricht für ein einwandfreies Funktionieren des Apparates. Die Meßleistung ist sehr hoch und beträgt je nach Sorte und Reifegrad der Trauben 100 bis 120 Messungen in der Stunde.

II. Kapitel: Die Veränderung des Perforationswiderstandes der Beerenoberhaut im Verlauf der Vegetationsperiode und ihr Einfluß auf die Infektionshäufigkeit

1. Die Versuchsmethode

Zur Untersuchung gelangten folgende vier Traubensorten: Als Rotweinsorten die frühe Gamais précoce und die späterreifende Blauburgunder, welche beide für *Botrytis cinerea* anfällig sind. Als Weißweinsorten wurden Riesling × Silvaner (mittelfrüh und anfällig) und Gutedel (spätreifend und wenig anfällig) in die Versuche miteinbezogen. Mit den Untersuchungen wurde in der zweiten Woche des Monats Juli begonnen, als die Beeren Erbsengröße erreicht hatten. Unter dem Mikroskop wurde festgestellt, daß

bei den Beeren sämtlicher vier Sorten die Spaltöffnungen schon verkorkt waren. Daß *Botrytis cinerea* die Lenticellen nicht als Eintrittspforten benützt, hat NELSON 1951 in seinen Versuchen nachgewiesen.

Jede Woche wurden aus dem Rebberg der Versuchsanstalt von jeder Sorte 10 bis 12 Trauben ausgelesen und bei diesem Versuchsmaterial darauf geachtet, daß die Trauben innerhalb der gleichen Sorte möglichst den gleichen Reifegrad aufwiesen. Von jeder Traube wurden im Labor die 10 bis 15 obersten Beeren mit den Stielen weggeschnitten und für die Messungen des Perforationswiderstandes sowie für die auf S. 337/38 beschriebenen Zucker-, Gesamtsäure- und pH-Bestimmungen auf die Seite gelegt; die übrigen Beeren mitsamt den Stielen weggeschnitten, sorgfältig eine Beere neben der anderen eine Schicht tief in eine zudeckbare Glasschale von etwa 18 cm Durchmesser gelegt und mit Hilfe eines Fixativzerstäubers mit Sporensuspension von *Botrytis cinerea* beimpft. Die Oberhaut der etwa 100 bis 150 Beeren je Sorte und Versuch wurde vorher nicht verletzt.

Für alle die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche wurde ein Stamm von *Botrytis cinerea* verwendet, welcher 1944 von Trauben abgeimpft wurde und seither seine Virulenz nicht eingebüßt hatte. Er eignete sich für die vorliegenden Untersuchungen besonders gut, da er auf geeignetem Agarnährboden reichlich sporuliert. Sklerotienbildung konnte nur selten beobachtet werden.

Die Gewinnung des Sporenmaterials erfolgte auf einem Agarnährboden folgender Zusammensetzung:

Traubensaft, entsäuert	100 cc
Tomatensaft	100 cc
Hefeautolysat	50 cc
Agar	20 g
Aqua dest. ad.	1000 cc

Vor dem Autoklavieren wurde das pH mit n-Natronlauge auf 4,5 eingestellt.

Für das Beimpfen von vier Schalen wurde das Sporenmaterial von zwei Schrägagarröhrchen (Alter der Kultur 6 bis 8 Tage) in 20 ccm destilliertem Wasser suspendiert und durch Watte filtriert. Die beimpften Schalen wurden während zwei Tagen zugedeckt in den Thermostaten bei 20° C gestellt. Nach dieser Zeit wurden die Schalen abgedeckt, damit die Beeren äußerlich abtrocknen konnten, und weiterhin bei 20° C inkubiert. Nach 3, 5, 7 und 9 Tagen wurde durch Auszählen der prozentuale Anteil der infizierten Beeren ermittelt. Die Infektionsstellen waren durch bläuliche Flecken bei den unreifen Beeren und durch eine bräunliche Verfärbung der Epidermis bei den reifen Beeren gekennzeichnet und vor allem bei den beiden Weißweinsorten Riesling × Silvaner und Gutedel leicht zu erkennen. Bei den beiden Rotweinsorten Gamais précoce und Blauburgunder konnte von einem gewissen Reifezustand an diese pathogene Verfärbung wegen der Eigenfarbe

der Beerenhaut nicht mehr festgestellt werden. Die Infektionsstellen waren jedoch etwa zwei Tage später durch den grauen Pilzrasen gekennzeichnet.

Mit diesen Untersuchungen mußte leider letztes Jahr schon Ende August bis Anfang September wiederum aufgehört werden, da es zu dieser Zeit nicht mehr möglich war, *botrytis*-freies Traubenmaterial zu finden. Zudem wurde die Sorte Gamais précoce um diese Zeit abgeerntet. Allein mit der Sorte Gutedel konnte bis Mitte September weitergearbeitet werden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abb. 4 festgehalten.

Für die Messungen des Perforationswiderstandes wurde, wie schon erwähnt, von jeder Traube eine Anzahl Beeren reserviert. Die Messungen wurden an fünf Beeren je Traube durchgeführt und jede Beere fünfmal angestochen, was für jede Sorte wöchentlich 250 Messungen ergibt. Die Ergebnisse dieser Druckmessungen sind in Abb. 5 aufgezeichnet.

2. Die Ergebnisse

Aus Abb. 4 ist ersichtlich, daß bei allen vier untersuchten Sorten mit zunehmender Reife der Beeren die Infektionshäufigkeit deutlich zunimmt. Eine Veränderung der Infektionsdisposition während der Reifeperiode hat also stattgefunden. Anderseits ist insofern eine sortenbedingte Anfälligkeit der untersuchten Traubensorten gegen *Botrytis cinerea* zu bemerken, als z. B. die Infektionskurve der Sorte Gutedel nie so hohe Werte erreicht wie z. B. diejenige der Sorten Gamais précoce und Blauburgunder. (Sorte Riesling × Silvaner vgl. Seite 330.)

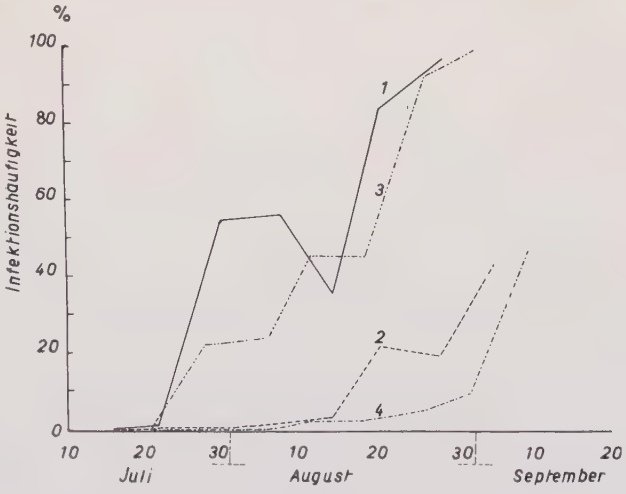


Abb. 4. Die Veränderung der Infektionshäufigkeit im Verlauf der Reifeperiode. Ergebnisse vom siebenten Tage nach der Infektion. Kurve 1: Sorte Gamais précoce, Kurve 2: Sorte Riesling × Silvaner, Kurve 3: Sorte Blauburgunder, Kurve 4: Sorte Gutedel

Den Infektionskurven entgegengesetzt verlaufen die Kurven in Abb. 5. Anfänglich ist bei allen vier Sorten ein deutlicher Anstieg des Perforationswiderstandes zu bemerken. Von einem gewissen Zeitpunkt an, welcher von der Reifegeschwindigkeit der einzelnen Sorten abhängt, beginnt er hingegen wieder abzunehmen. Bei den drei Sorten Gamais précoce, Riesling × Silvaner und Gutedel beträgt der aufzuwendende Druck anfangs September noch etwa 20 g, während er bei der Sorte Blauburgunder nicht unter 27 g absinkt.

Vergleicht man die Kurven der Abb. 4 mit denjenigen der Abb. 5, so scheint tatsächlich ein Zusammenhang zwischen Perforationswiderstand und Infektionshäufigkeit zu bestehen, nämlich in dem Sinne, daß mit zunehmender Reife die Beeren deswegen häufiger von *Botrytis cinerea* befallen werden, weil der Pilz wegen der stetigen Abnahme des Perforationswiderstandes der Oberhaut immer weniger Kraft aufwenden muß, um ins Beereninnere zu gelangen. Daß der oben erwähnte Anstieg der Infektionskurven wenigstens bei drei Sorten (Gamais précoce, Riesling × Silvaner und Gutedel) chronologisch in der gleichen Reihenfolge einsetzt, wie die Abnahme des aufzuwendenden Perforationsdruckes, scheint die Richtigkeit dieser Annahme zu bestätigen.

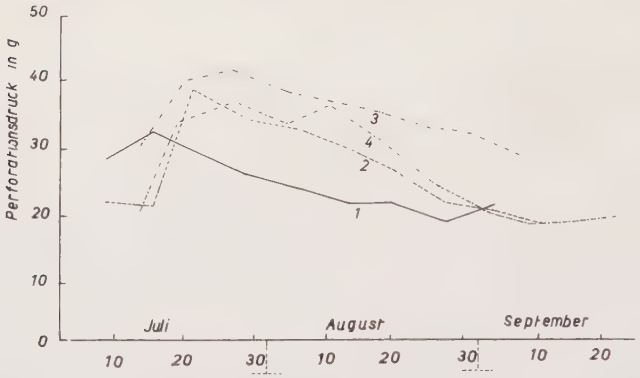


Abb. 5. Die Veränderung des Perforationswiderstandes der Beerenoberhaut im Verlauf der Vegetationsperiode. Kurve 1: Sorte Gamais précoce, Kurve 2: Sorte Riesling × Silvaner, Kurve 3: Sorte Blauburgunder, Kurve 4: Sorte Gutedel

Bei näherem Betrachten der Ergebnisse liegen aber die Verhältnisse nicht so einfach wie anfänglich angenommen werden könnte. Mit zunehmender Reife der Trauben konnte nämlich festgestellt werden, daß die Beeren in der Feuchtschale mehr und mehr aufzuspringen begannen. Besonders groß war der Anteil der aufgesprungenen Beeren, wenn das Untersuchungsmaterial während einer Regenperiode gesammelt wurde. Daß solche aufgesprungenen Beeren sofort von *Botrytis* befal-

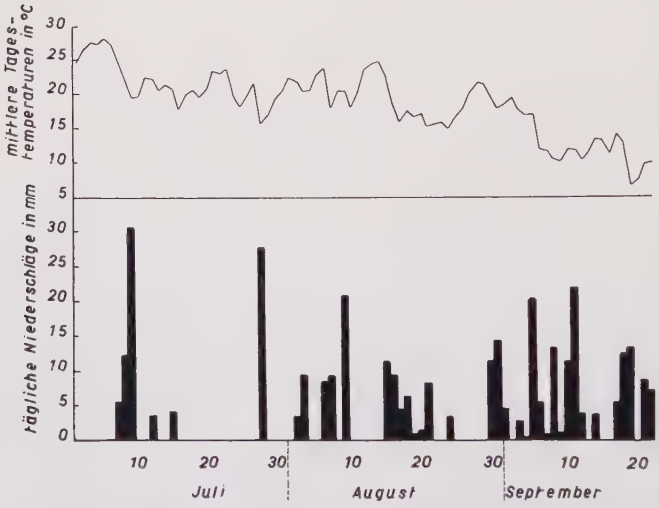


Abb. 6. Niederschläge und mittlere Tagestemperaturen während der Monate Juli, August und September[1])

[1]) Die meteorologischen Erhebungen wurden im Areal der Versuchsanstalt vorgenommen und mir von Herrn Dr. A. OSTERWALDER in verdankenswerter Weise zur Verfügung gestellt.

len werden können, ist selbstverständlich, eine Tatsache, welche bei den Infektionskurven in Abbildung 4 mehr oder weniger deutlich zum Ausdruck kommt. Das starke Ansteigen der Infektionskurve der Sorte Gamais précoce am 30. Juli (das Traubenmaterial wurde am 29. Juli gesammelt), die deutliche Zunahme der Infektionshäufigkeit der Sorte Riesling × Silvaner am 20. August und am 4. September und derjenigen der Sorte Gutedel am 1. und am 9. September fällt in Perioden mit starken Niederschlägen. Eine Abnahme der Infektionshäufigkeit macht sich bei der Sorte Gamais précoce am 14. August und bei der Sorte Riesling × Silvaner am 28. August während regenarmer Perioden bemerkbar. Starke Niederschläge scheinen also die Entwicklung von *Botrytis cinerea* nicht nur direkt zu begünstigen, sondern auch indirekt, indem sie die Eindringungsresistenz des Wirtes herabsetzen und zudem für den Erreger Infektionsbedingungen schaffen, unter welchen jegliche Wirkung fungizider Spritzmittel dahinfällt. Es ist natürlich klar, daß eine Traubenbeere, trotzdem sie von einem schützenden Spritzbelag umgeben ist, nachher aber aufspringt, ungehindert vom Pilz befallen werden kann.

Das Aufspringen der Beeren scheint aber nicht nur von der Witterung abhängig zu sein, sondern auch in einem gewissen Zusammenhang mit dem gemessenen Perforationsdruck zu stehen. Wie aus den beiden Abb. 4 und 5 hervorgeht, machen sich bei den drei Sorten Gamais précoce, Riesling × Silvaner und Gutedel die erwähnten Witterungseinflüsse erst dann bemerkbar, wenn der gemessene Perforationsdruck auf einen gewissen Wert (etwa 25 g) abgesunken ist. Dieser Wert wird von der Sorte Gamais précoce am 29. Juli, von der Sorte Riesling × Silvaner am 20. August und von der Sorte Gutedel am 25. August erreicht. Bei den ersten zwei der genannten Sorten fällt der erste Anstieg der Infektionskurven, welcher zum Teil durch das Aufspringen der Beeren verursacht wurde, in diese Zeit, bei der Sorte Gutedel bei einsetzenden Niederschlägen einige Tage später.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage betreffend der Zulänglichkeit der verwendeten Meßmethode in den Vordergrund. Stehen die gemessenen Veränderungen des Perforationswiderstandes in direktem Zusammenhang mit der Infektionshäufigkeit, oder sind sie lediglich Folgeerscheinungen des allgemeinen Reifevorganges, auf die der Pilz nicht anspricht? Die Berechtigung dieser Frage geht aus dem abweichenden Verhalten der Sorte Blauburgunder hervor. Verfolgt man die Infektionskurve dieser Sorte, so sieht man, daß sie gerade zu diesem Zeitpunkt anzusteigen beginnt, an welchem der Perforationswiderstand seinen Höchstwert erreicht hat, nämlich am 28. Juli.

Nach Blackman und Welsford 1916 ist, wie schon erwähnt, die Kutikula die einzige Barriere, die dem Eindringen des Pilzes erheblichen Widerstand entgegensetzt. Ist sie einmal durchbrochen, so werden die darunterliegenden Epidermiszellen durch die Pilzausscheidungen enzymatisch zerstört. Mit der verwendeten Apparatur war es aber nicht möglich, nur allein die Festigkeit der Kutikula zu bestimmen, der Perforationswiderstand der dar-

unterliegenden Epidermisschicht wurde auch mitgemessen. Ist der Widerstand der Kutikula größer als derjenige der Epidermis, so fällt diese Unzulänglichkeit der Meßmethode nicht ins Gewicht. Ist aber der Fall umgekehrt, so können die durchgeführten Messungen zu Fehlschlüssen führen. Es ist sehr wohl möglich, daß mit zunehmender Reife der Trauben die Kutikula nicht mehr als zusammenhängende Schicht die Beerenoberhaut bedeckt, sondern kleine, von Auge nicht sichtbare Risse aufweist, durch welche der Pilz ohne Widerstand eindringen kann. Auf diese Art und Weise wäre es möglich, das abnorme Verhalten der Sorte Blauburgunder zu erklären. In diesem Falle aber wären die durchgeführten Messungen illusorisch.

Aus all diesen Ausführungen geht hervor, daß sich die Infektionsbedingungen für *Botrytis cinerea* von der Seite des Wirtes her recht kompliziert und komplex gestalten können und daß vermutlich die Ursachen für die vermehrte Infektionshäufigkeit bei zunehmender Reife der Beeren und die sortenbedingten Unterschiede der Infektionsdisposition mit dieser Methode allein nicht vollständig erfaßt werden können.

Wie mannigfaltig und von den Versuchen im Labor abweichend sich die Infektionsbedingungen im Freiland gestalten können, soll im nächsten Kapitel an Hand von zwei Beispielen gezeigt werden.

III. Kapitel: Die Auswirkung spezifischer Sorteneigentümlichkeiten auf die Infektionshäufigkeit durch *Botrytis cinerea*

1. Die Infektionsverhältnisse bei der Sorte Riesling × Silvaner

Von der Sorte Riesling × Silvaner ist bekannt, daß sie für *Botrytis cinerea* sehr anfällig ist. Diese Tatsache kommt bei den Spritzversuchen in Tabelle 1 recht deutlich zum Ausdruck, wo der Befall in den Kontrollreihen am 17. September auf 80 % ansteigt. Eine so starke Fäulnis konnte bei keiner anderen der geprüften Sorten im Freiland festgestellt werden, auch nicht bei der Sorte Blauburgunder.

Bei den Infektionsversuchen im Laboratorium (Abb. 4) zeigte es sich aber, daß die Infektionshäufigkeit der Sorte Riesling × Silvaner während der ganzen Versuchsperiode weit hinter derjenigen der Sorte Blauburgunder zurückbleibt. Die Ursache ist darin zu suchen, daß eine gewisse Sorteneigentümlichkeit, welche für Riesling × Silvaner typisch zu sein scheint und den Infektionsvorgang wesentlich erleichtert, unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht zur Auswirkung gelangen konnte. Während der heftigen Regenfälle vom 1. bis 10. September konnte nämlich festgestellt werden, daß im Freiland ein großer Teil der Beeren vom Stielansatz abriß, entweder zu Boden fiel oder nur noch an einem Stück Beerenhaut befestigt am Kissen hängen blieb. Die so beschädigten Beeren faulten innerhalb kürzester Zeit. Bei den anderen drei untersuchten Sorten konnte diese Feststellung nur selten gemacht werden.

Es war naheliegend, die Ursache dafür in einer unterschiedlichen Haftfestigkeit der Beeren am Stiel zu suchen. Zu diesem Zweck wurde folgende

einfache Vorrichtung verwendet (vgl. Abb. 7).

Die zu untersuchenden Beeren wurden in einen durchbohrten, rostfreien Metallteller von etwa 6 cm Durchmesser gelegt, und zwar so, daß der Stiel mit dem Kissen durch das Loch unten herausragte. Der Teller wurde frei hängend an einem Stativ befestigt. An den Stiel resp. an das Kissen wurde mit Hilfe einer Krokodilklemme eine Blechbüchse von etwa 300 ccm Inhalt befestigt und mit gleichmäßigem Wasserstrahl aus dem Erlenmeyerkolben mit Wasser angefüllt, bis der Stiel von der Beere abriß und die Büchse auf das darunterliegende Gummipolster fiel. Mit Hilfe einer Federwaage wurde das Gewicht (Büchse + Wasser) bestimmt, welches notwendig war, um den Stiel von der Beere wegzureißen. Die Werte in Tabelle 2 sind Mittelwerte von je etwa 100 Messungen. Diese Messungen wurden am 12. September durchgeführt.

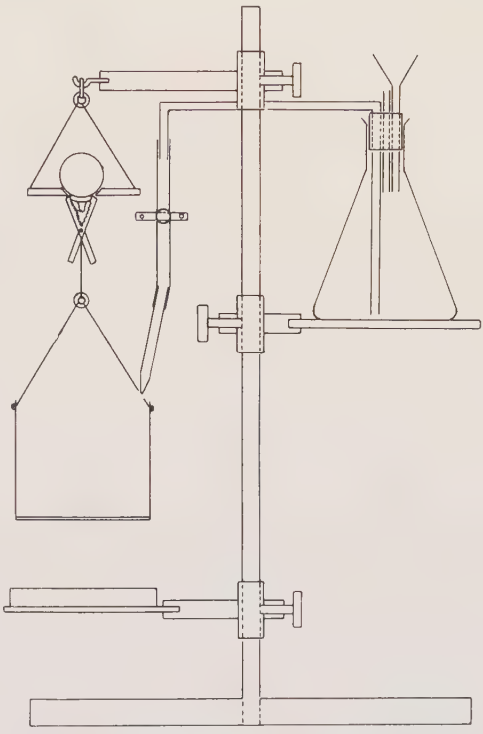


Abb. 7. Meßvorrichtung für die Haftfestigkeit der Beeren am Stiel. Schematische Darstellung

Tabelle 2

Die Haftfestigkeit von Traubenbeeren am Stiel

Traubensorte	An den Stiel angehängtes Gewicht in g
Riesling × Silvaner	121,3 ± 25,9
Blauburgunder	196,7 ± 37,9
Gutedel	212,5 ± 46,8

Aus den erhaltenen Zahlen geht hervor, daß tatsächlich die Beeren der Sorte Riesling × Silvaner zu diesem Zeitpunkt nur ungefähr halb so fest am Kissen saßen wie zum Beispiel diejenigen der Sorte Gutedel, so daß bei zunehmendem Turgordruck (hervorgerufen durch eingeschränkte Transpiration bei gleichzeitig gesteigerter Wasseraufnahme) infolge mechanischer Einwirkungen (heftige Regenfälle, Wind usw.) und infolge ihres Eigengewichtes die Beeren von ihrer Ansatzstelle ganz oder teilweise abrissen und durch die entstandene Wunde dem Pilz ungehinderten Eintritt gestatteten. Alle diese Faktoren konnten natürlich in der Feuchtschale nicht zur Auswirkung gelangen, womit sich dort die geringere Infektionshäufigkeit bei der Sorte Riesling × Silvaner erklären läßt. Es ist noch zu erwähnen, daß

vermutlich die Haftfestigkeit der Beeren am Stiel auch bei den anderen zwei Sorten mit zunehmender Reife bis zu einem gewissen Grad nachläßt, so daß die in Tabelle 2 erhaltenen Werte nur gerade für den Zeitpunkt absolute Gültigkeit haben, an welchem die Messungen durchgeführt wurden.

2. Die Infektionsverhältnisse bei der Sorte Gamais précoce

Noch wesentlich anders liegen die Verhältnisse bei den dichtbeerigen Trauben, wie dies zum Beispiel an Hand der Sorte Gamais précoce gezeigt werden kann. Schon bald nach ihrer Blaufärbung wurden die Beeren vom Grauschimmel befallen, sobald einige Regenfälle einsetzten. Diese Infektionen fanden schon zu einem Zeitpunkt statt, wo weder auf anderen Traubensorten noch auf dem am Boden liegenden Blattdetritus der Pilz festgestellt werden konnte. Im Zusammenhang mit der *Botrytis*-Bekämpfung war es interessant, das Keimreservoir zu finden, welches dem Pilz ein so rasches Ausbreiten gestattete. Zu diesem Zweck wurde folgender Versuch durchgeführt:

Am 8. August wurden 30 Trauben der Sorte Gamais précoce, an welchen äußerlich keine Krankheitssymptome festgestellt werden konnten, ohne vorherige Behandlung in einen mit Formalindampf desinfizierten Infektionskasten gehängt, dessen Innenwände mit feuchtem Filterpapier ausgekleidet waren, wodurch im Innern des Kastens eine hundertprozentige Luftfeuchtigkeit erreicht wurde. Von Zeit zu Zeit wurden die Trauben kontrolliert und diejenigen, welche *Botrytis*-Befall aufwiesen, herausgenommen und in einen zweiten Kasten gehängt. Der Befall wurde nach der Methode von TOWNSEND und HEUBERGER (vgl. Seite 318) ermittelt. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3

Versuch mit Spontaninfektionen

Anzahl Tage im Feuchtkasten	Kranke Trauben in %	Befallsprozente nach TOWNSEND u. HEUBERGER
2½	52,0	16,0
4	74,0	26,0
5	86,5	43,5
9	91,0	72,5

Die Tatsache, daß schon nach zweieinhalb Tagen über die Hälfte und nach vier Tagen 74 % der untersuchten Trauben durch *Botrytis* infiziert wurden, läßt darauf schließen, daß große Mengen von Infektionsmaterial mit den Trauben in die Kästen geschleppt wurden. Nähere Untersuchungen an frischem Traubenmaterial, an welchem äußerlich wiederum kein *Botrytis*-Befall festgestellt werden konnte, ergaben, daß sich der Pilz im Innern der Traube aufhalten kann. Wurden nämlich an solchen Trauben die Beeren abgezupft, so konnte in vielen Fällen der Erreger reichlich sporulierend im inneren Gefüge, auf abgefallenen und zwischen den Beerenstielen hängengebliebenen Mützchen und auf abgestorbenen, verrieselten Beeren gefunden

werden. An lockerbeerigen Trauben, wie zum Beispiel an der Sorte Gutedel, konnte diese Feststellung nur selten und nur nach sehr heftigen Regenfällen gemacht werden. Diese Beobachtung läßt darauf schließen, daß dichtbeerige Trauben für den Pilz eigentliche Feuchtkammern darstellen, in welchen er sich anfänglich in saprophytischer Lebensweise gut entwickeln und vermehren kann und nur noch günstige Infektionsbedingungen abzuwarten braucht (beginnende Reife der Beeren, Niederschläge), um von innen heraus die Beeren zu infizieren. Das anfänglich auf gewisse Stellen, vor allem auf die unteren Partien der Traube beschränkte Wachstum, und die Tatsache, daß die Konidienrasen in den meisten Fällen zuerst zwischen und nicht auf den Beeren hervorbrechen, scheint diese Annahme zu bewahrheiten. Dieses Verhalten des Pilzes scheint auch der Grund zu sein, warum viele der untersuchten Spritzmittel unter Laboratoriumsbedingungen Erfolg zu versprechen schienen, im Freiland hingegen mehr oder weniger versagten. Im Laboratorium wurde in der Regel die ganze Traube in das zu prüfende Bekämpfungsmittel eingetaucht, so daß auch im Innern der Traube jegliches Infektionsmaterial abgetötet wurde. Bei den Feldversuchen hingegen, wo die Bekämpfungsmittel außen an die Trauben gespritzt wurden, blieben vor allem das innere Gefüge wie auch die distalen Partien der Beeren unbenetzt, so daß sich dort der Erreger ungehemmt entwickeln und von innen heraus die Beeren infizieren konnte.

IV. Kapitel: Der Grad der Erkrankungsdisposition zweier Traubensorten gegenüber *Botrytis cinerea* und die Veränderung desselben im Verlauf der Vegetationsperiode

1. Allgemeines

In den bisherigen Ausführungen wurde versucht, einige Fragen über die Infektionsbedingungen, wie sie sich für *Botrytis cinerea* während der Vegetationsperiode von der Wirtsseite her gestalten, im Zusammenhang mit den direkten Bekämpfungsmöglichkeiten abzuklären. An Hand von Laboratoriumsversuchen konnte gezeigt werden, daß die Infektionsdisposition der Traubenbeeren sich nicht nur im Verlauf der Vegetationsperiode verändert, sondern auch von Sorte zu Sorte verschieden sein kann. Diese Tatsache stimmt mit den Beobachtungen in der Praxis gut überein, wo auch mit zunehmender Reife der Beeren die Befallshäufigkeit zunimmt, die Befallsstärke aber von einer Sorte zur andern in einem gewissen Rahmen variieren kann. Während die Sorte Gutedel zum Beispiel dieses Jahr erst Mitte September relativ leichten *Botrytis*-Befall aufwies, hatte die Sorte Blauburgunder schon Mitte August stark unter dieser Krankheit zu leiden.

Die Befallsstärke, wie sie mit der Methode von Townsend und Heuberger ermittelt werden kann, wird aber nicht nur allein durch die Infektionshäufigkeit bestimmt, sondern auch durch die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Erregers im Innern des Wirtes; das heißt, daß die unterschiedliche Befallsstärke der Sorte Gutedel und Blauburgunder nicht nur auf einer unterschied-

lichen Infektionsdisposition beruht, sondern möglicherweise auch auf einer verschieden ausgeprägten Erkrankungsdisposition. Die zur Klärung dieser Frage durchgeführten Versuche sollen in diesem Kapitel behandelt werden.

2. Die Versuchsmethode

Zur Untersuchung gelangten hauptsächlich die beiden Sorten Gutedel und Blauburgunder, da sie beide eine ähnliche Reifegeschwindigkeit aufweisen, bezüglich des *Botrytis*-Befalles aber stark voneinander abweichen. Bei den anderen Sorten Gamais précoce und Riesling × Silvaner wurden die Versuche nur stichprobeweise durchgeführt.

Von dem Traubengut, welches wöchentlich im Rebberg gesammelt wurde, wurde jedesmal ein Teil der Beeren für diese Versuche verwendet. Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen. Ungefähr 100 bis 120 Beeren wurden samt den Stielen weggeschnitten und in gleicher Art und Weise wie auf Seite 326 beschrieben in Feuchtschalen gelegt. Jede Beere wurde sodann mit einer möglichst sterilen Nadel angestochen. Die so behandelten Beeren wurden gleich wie bei den Infektionsversuchen mit einer Sporensuspension von *Botrytis cinerea* beimpft und während zweier Tage zugedeckt in den 20 ° C-Thermostaten gestellt. Nach dieser Zeit wurden die Glasschalen abgedeckt, die Beeren äußerlich abtrocknen gelassen und weiterhin bei 20 ° C inkubiert. Alle zwei Tage wurde der prozentuale Anteil d e r Beeren bestimmt, deren Oberfläche mehr als zur Hälfte verfault war. Nach 10 bis 14 Tagen wurde ein Versuch jeweils abgebrochen. Die Ergebnisse sind aus Abb. 8 ersichtlich.

3. Die Ergebnisse

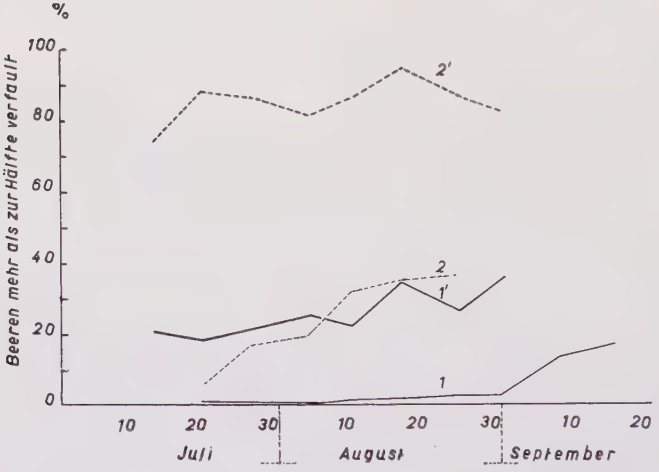


Abb. 8. Die Geschwindigkeit des Krankheitsverlaufes bei zwei Traubensorten und ihre Veränderung während der Vegetationsperiode. Kurve 1: Sorte Gutedel am fünften Tage nach der Infektion, Kurve 1′: Sorte Gutedel am neunten Tage nach der Infektion, Kurve 2: Sorte Blauburgunder am fünften Tage nach der Infektion, Kurve 2′: Sorte Blauburgunder am neunten Tage nach der Infektion

Aus Abb. 8 geht ganz eindeutig hervor, daß sich der Erreger in den Beeren der Sorte Blauburgunder viel rascher ausbreitet als in denjenigen der Sorte Gutedel. Neben diesem sortenbedingten Unterschied ist aber auch am Verlauf der Kurven in dem Sinne eine Verschiebung der Erkrankungsdisposition festzustellen, daß mit zunehmender Reife der Beeren ihre Aus-

breitungsresistenz nachläßt. Zwar ist diese Veränderung der Ausbreitungsresistenz nicht so augenfällig wie diejenige der Infektionsresistenz in Abb. 4, aber dennoch am fünften Tag nach der Infektion recht deutlich zu erkennen. Der geringere Krankheitsbefall bei der Sorte Gutedel im Freiland ist demnach nicht nur darauf zurückzuführen, daß die Infektionsanfälligkeit geringer ist, sondern auch darauf, daß die Ausbreitung des Pilzes im Innern der Beeren gehemmt wird.

Die Ursachen für diese Hemmung können die folgenden sein:

a) Das Gewebe der Gutedelbeeren setzt dem Pilz rein mechanisch ein größeres Hindernis entgegen, als das bei der Sorte Blauburgunder der Fall ist.

b) Der Zellsaft der Gutedelbeeren ist für den Pilz kein geeignetes Nährsubstrat, oder er enthält irgendwelche pilzhemmenden Stoffe.

c) Beim Eindringen des Pilzes beginnen sich im Innern der Beeren irgendwelche Abwehrreaktionen abzuspielen.

Die Versuche, welche zur Klärung dieser Probleme durchgeführt wurden, sind im nächsten Kapitel beschrieben.

V. Kapitel: Die Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz der Sorte Blauburgunder und der Sorte Gutedel

1. Mechanische Hindernisse und Abwehrreaktionen als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz

a) Die Versuchsmethode. Das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf abgetöteten Traubenbeeren

Am 30. Juli wurden ganze Trauben der Sorte Gutedel und der Sorte Blauburgunder während 24 Stunden bei — 20 ° C tiefgekühlt und nachher bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut. Nach dieser Behandlung nahmen die anfänglich grünen und harten Beeren eine bräunliche Verfärbung an und wurden weich. Beim Anstechen der Beeren spritzte reichlich Zellsaft aus der Verletzungsstelle, alles Anzeichen dafür, daß die Zellen abgetötet und die Zellwände zerstört worden sind. Von jeder Sorte wurden etwa 100 Beeren samt den Stielen in eine Glasschale ausgelegt, mit einer möglichst sterilen Nadel verletzt und auf jede Anstichstelle von einer Agarkultur ein kleines Mycelstückchen gelegt. Die Schalen wurden zwei Tage lang zugedeckt in den 20 ° C-Thermostaten gestellt, nachher abgedeckt und bei gleicher Temperatur weiter inkubiert.

b) Die Ergebnisse

Schon nach fünf Tagen sporulierte der Pilz bei der Sorte Blauburgunder auf dem Agarstückchen kräftig, während er sich auf der Sorte Gutedel nur spärlich entwickelte. Mikroskopische Untersuchungen ergaben, daß nach dieser Zeit die Pilzhyphen die Blauburgunderbeeren vollständig durchwuchert hatten, während sie bei der Sorte Gutedel auf der der Infektionsstelle entgegengesetzten Beerenseite in den wenigsten Fällen nachgewiesen werden konnten. Auf Grund dieser Beobachtungen fällt die Möglichkeit einer mechanischen Hem-

mung dahin. Ebenfalls ist es nicht wahrscheinlich, daß in abgetöteten Zellen noch irgendwelche Abwehrreaktionen ausgelöst werden. Die Ursache für das gehemmte Wachstum ist demnach vermutlich darin zu suchen, daß der Zellsaft der Gutedelbeeren für den Pilz kein geeignetes Nährsubstrat darstellt oder irgendwelche pilzhemmenden Stoffe enthält. Um diese Frage zu prüfen, wurde folgendermaßen vorgegangen:

2. Ungeeignetes Nährsubstrat oder pilzhemmende Stoffe als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz

a) Das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf Traubenpreßsaft

aa) Die Versuchsmethode

Von den Beeren beider Sorten wurde am 30. Juli Preßsaft gewonnen. Dieser Saft wurde über Nacht in den Kühlschrank (— 4 ° C) gestellt, durch Dekantieren von den gröberen Zellbestandteilen getrennt, durch Faltenfilter filtriert und anschließend zentrifugiert. Der so geklärte Saft wurde mit Hilfe von Seitzfiltern keimfrei gemacht, in sterile Erlenmeyerkolben abgefüllt und mit Sporensuspension beimpft. Ebenfalls wurde nach den weiter hinten beschriebenen Methoden der Zuckergehalt, der Gesamtsäuregehalt und der pH-Wert bestimmt. Die beimpften Kolben wurden zwölf Tage lang bei etwa 20 ° C inkubiert, dann das Pilzmycel abfiltriert, bei 103 ° C getrocknet und gewogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt.

bb) Die Ergebnisse

Tabelle 4

Das Wachstum von *Botrytis cinerea* auf Preßsaft von Gutedel- und Blauburgunderbeeren

Sorte	Zuckergehalt in %	Gesamtsäuregehalt in 10^{-4} g-Äquiv. NaOH	pH-Wert	Mycelgewicht je Kolben in mg	Wachstum in %
Gutedel	3,0	3,30	2,58	77,7	22,1
Blauburgunder	3,0	3,20	2,59	351,8	100,0

Wie die Ergebnisse in Tabelle 4 zeigen, gedeiht *Botrytis cinerea* auf dem Preßsaft der Blauburgunderbeeren fast fünfmal besser als auf demjenigen der Gutedelbeeren. Das Wachstum des Pilzes auf dem Gutedelsaft beträgt nur 22 %, gemessen an demjenigen auf dem Blauburgundersaft. Untersucht man die Fäulnisgeschwindigkeit dieser beiden Sorten, so beträgt sie zu diesem Zeitpunkt bei der Sorte Gutedel vier und sieben Tage nach der Infektion 0 %, neun Tage nach der Infektion 16,9 % und elf Tage nach der Infektion 24,2 %, gemessen an derjenigen der Sorte Blauburgunder (100 %). Der Pilz verhält sich also auf dem Saft dieser beiden Sorten ähnlich wie im Innern der Beeren.

Diese Ergebnisse, wie sie von unreifen Beeren erhalten wurden, dürfen aber nicht verallgemeinert werden, da es gut möglich ist, daß sich diese Wachs-

tumsunterschiede bei reifen Beeren zum Teil wieder verlieren können, womit die Zunahme der Erkrankungsgeschwindigkeit der Gutedelbeeren gegen den Herbst hin erklärt werden könnte.

In den nächsten Abschnitten wurde versucht, im Sinne von Tastversuchen auf die stofflichen Unterschiede der beiden Preßsäfte einzugehen, durch welche eine so starke Wachstumsdifferenz des Pilzes hervorgerufen werden könnte. Zu diesem Zweck wurde während der ganzen Reifeperiode die Veränderung des Zuckergehaltes, der Gesamtsäure und des pH-Wertes an allen vier erwähnten Traubensorten kontrolliert.

b) Der Zuckergehalt des Traubensaftes als Ursache für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz und seine Veränderung während der Vegetationsperiode

aa) Die Bestimmungsmethode

Von dem Traubengut, welches wöchentlich im Rebberg geholt wurde, wurden von jede der zehn bis zwölf Trauben einer Sorte einige Beeren mit einer Preßzange, wie sie dem Zeissrefraktometer beiliegt, ausgepreßt. Dieser Saft (etwa 2 bis 4 cc je Einzelprobe) reichte für alle drei Bestimmungen. Von den zehn bis zwölf Einzelproben einer Sorte wurde jede Woche der Mittelwert berechnet.

Für die Bestimmung des Zuckergehaltes gelangte aus folgenden Gründen die refraktometrische Methode zur Anwendung: Wegen der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Preßsaftes und des zu geringen Zuckergehaltes in unreifen Beeren kam die Bestimmungsmethode nach FEHLING und BERTRAND überhaupt nicht in Betracht. Zudem war es mit dem Refraktometer möglich, innerhalb kürzester Zeit eine große Anzahl von Messungen durchzuführen, was für die vorliegenden Untersuchungen wegen der vielen Bestimmungen von größter Wichtigkeit war.

Die refraktometrische Methode hat gegenüber derjenigen nach FEHLING und BERTRAND den Nachteil, daß nicht nur der Zuckergehalt bestimmt, sondern auch alle übrigen optisch aktiven Substanzen mitgemessen wurden, was aber für die vorliegenden Untersuchungen, wo nicht Absolut-, sondern Vergleichswerte maßgebend waren, nicht sehr ins Gewicht fällt.

bb) Die Ergebnisse

Sie sind in Abb. 9 enthalten.

Aus dem Verlauf der Kurven geht hervor, daß, wie zu erwarten war, der Anstieg des Zuckergehaltes zuerst bei der frühreifenden Sorte Gamais précoce einsetzte, wo schon Ende August ein Zuckergehalt von annähernd 20 % erreicht wurde. Diese Sorte vermochte die heiße Periode Mitte Juli bis Mitte August gut auszunützen, während die drei später reifenden Sorten während der eher kühlen und sehr regnerischen Witterungsperiode, welche teilweise schon Mitte August einsetzte und während der darauffolgenden Monate andauerte, solch hohe Werte überhaupt nicht mehr erreichen konnten. Ein sortenbedingter Zusammenhang zwischen Erkrankungsgeschwindigkeit

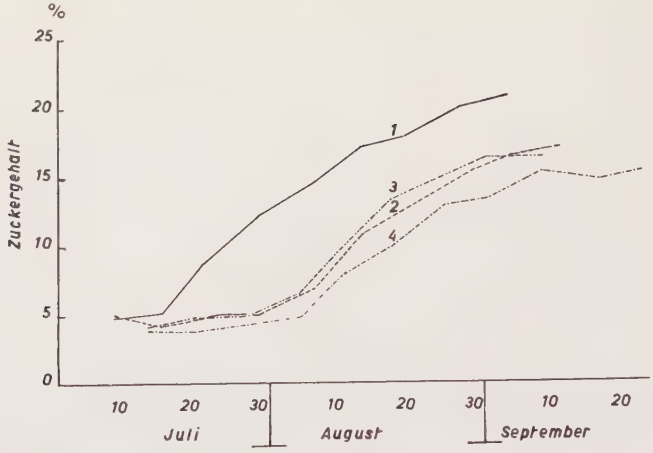


Abb. 9. Die Veränderung des Zuckergehaltes im Verlauf der Reifeperiode. Kurve 1: Sorte Gamais précoce, Kurve 2: Sorte Riesling × Silvaner, Kurve 3: Sorte Blauburgunder, Kurve 4: Sorte Gutedel

und Zuckergehalt der Beeren konnte nicht nachgewiesen werden. Wohl nimmt der Krankheitsverlauf mit steigender Zuckerkonzentration während der Reifeperiode an Geschwindigkeit zu, doch ist zum Beispiel am 28. Juli, zu einem Zeitpunkt, wo die Fäulniskurven der Gutedel- und der Blauburgunderbeeren deutlich voneinander abzuweichen beginnen, der Zuckergehalt annähernd gleich. Auch im späteren Verlauf des Reifeprozesses sind die mit dem Refraktometer bestimmten Werte der beiden Sorten nicht sehr voneinander verschieden. Die sortenbedingten Unterschiede bezüglich der Krankheitsanfälligkeit können bei diesen beiden Sorten nicht mit dem Zuckergehalt des Zellsaftes erklärt werden.

c) Der Gesamtsäuregehalt und der pH-Wert des Traubensaftes als Ursachen für die unterschiedliche Ausbreitungsresistenz und ihre Veränderung während der Vegetationsperiode

aa) Die Bestimmungsmethoden

Parallel mit den Zuckerbestimmungen wurde während des Verlaufes der Reifeperiode wöchentlich der Gesamtsäuregehalt und der pH-Wert des Traubensaftes ermittelt. Mit einer Mikropipette wurde von jeder der zehn bis zwölf Proben einer Traubensorte 1 cc Preßsaft abgemessen, mit 4 cc destilliertem Wasser verdünnt und mit n/10-Natronlauge titriert. Als Indikator diente Phenolphthalein. Von den zehn bis zwölf Bestimmungen wurde das Mittel berechnet und in Grammäquivalent Natronlauge ausgedrückt.

Der pH-Wert wurde auf elektrometrischem Wege ermittelt. Wegen der beschränkten Menge des zur Verfügung stehenden Traubensaftes (1,5 bis 2 cc je Einzelprobe) wurde mit einer kombinierten Glas-Kalomel-Elektrode gearbeitet.

bb) Die Ergebnisse

Sie sind aus den Abb. 10 und 11 ersichtlich.

Die Veränderungen des Gesamtsäuregehaltes des Traubensaftes während der Reifeperiode verlaufen bei allen vier Sorten gleichsinnig. Zuerst ist ein

deutlicher Anstieg der Kurven zu erkennen. Der höchste Wert wird von der Sorte Blauburgunder am 5. August erreicht mit etwa $5{,}5 \cdot 10^{-4}$ Grammäquivalent NaOH. Von einem gewissen Reifestadium an beginnt der Säureabbau, der, wie zu erwarten, bei der Sorte Gamais précoce zuerst festzustellen ist und dann in der Reihenfolge Riesling × Silvaner, Blauburgunder und Gutedel auch bei den anderen Sorten einsetzt. Ein Zusammenhang zwischen Fäulnisgeschwindigkeit und Gesamt-Säuregehalt des Traubenpreßsaftes ist bei den einzelnen Sorten nicht festzustellen.

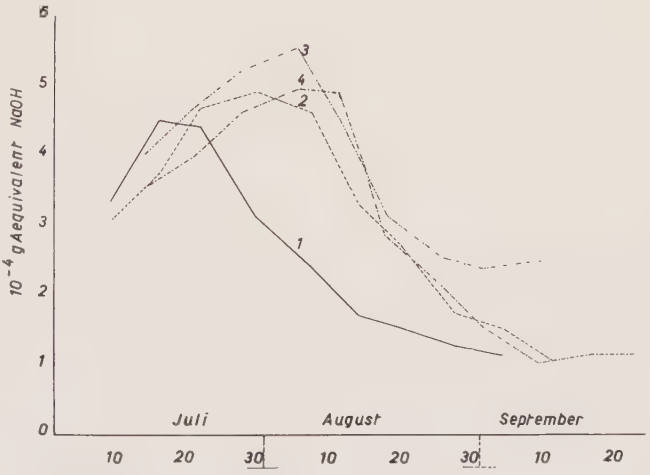


Abb. 10. Die Veränderung des Gesamtsäuregehaltes im Verlauf der Reifeperiode. Kurve 1: Sorte Gamais précoce, Kurve 2: Sorte Riesling × Silvaner, Kurve 3: Sorte Blauburgunder, Kurve 4: Sorte Gutedel

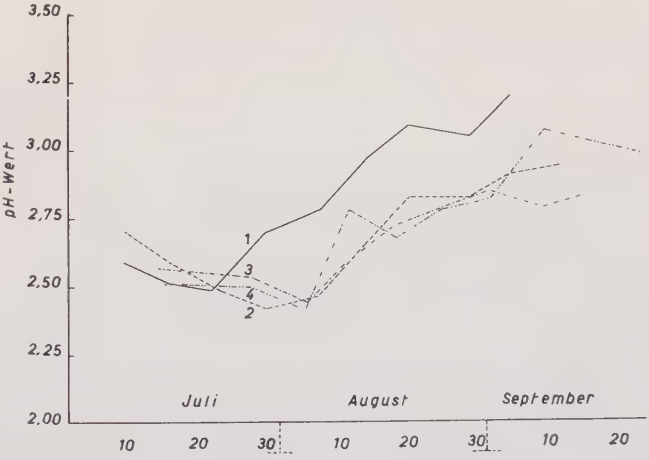


Abb. 11. Die Veränderung des pH-Wertes im Verlauf der Reifeperiode. Kurve 1: Sorte Gamais précoce, Kurve 2: Sorte Riesling × Silvaner, Kurve 3: Sorte Blauburgunder, Kurve 4: Sorte Gutedel

Die pH-Schwankungen sind wegen der guten Pufferung des Traubensaftes sehr gering und betragen maximal 0,75 Einheiten. Im übrigen entsprechen die pH-Veränderungen denjenigen des Gesamtsäuregehaltes und scheinen keinen Einfluß auf die Erkrankungsdisposition des Wirtes gegenüber *Botrytis cinerea* auzuüben.

C. Diskussion einiger Ergebnisse und Zusammenfassung

Nachdem jahrelange Versuche, die *Botrytis*-Fäule an Trauben mit chemischen Mitteln direkt zu bekämpfen, keinen Erfolg zeigten, war es naheliegend, nach den Ursachen zu suchen, welche dieses Versagen bewirken kön-

nen. Die möglichen Gründe hierfür sollen an dieser Stelle noch einmal kurz zusammengefaßt und diskutiert werden.

1. Die geprüften Mittel besitzen gegenüber *Botrytis cinerea* keine fungizide Wirkung

Dieses Argument fällt jedoch für viele der geprüften Verbindungen außer Betracht. Die Wirkung von Kupfersulfat auf *Botrytis*-Sporen ist nach den Untersuchungen von WILHELM 1944 ungefähr gleich groß wie diejenige auf *Peronospora*-Sporen. Wenn aber Kupfersulfat gegen die *Peronospora* im Freiland mit Erfolg angewendet wird, gegen *Botrytis* aber versagt, müssen die Gründe anderweitig gesucht werden. Mit einigen organischen Mitteln wie Tumex, Amarex usw. wurden von BLUMER 1944 unter Laboratoriumsbedingungen recht gute Erfolge erzielt. Diese Mittel versagten erst, wenn sie im Freiland angewendet wurden.

2. Die geprüften Mittel verlieren unter Freilandbedingungen ihre Wirksamkeit

Daß zum Beispiel das Kupfer durch Komplexbildung mit anderen Stoffen inaktiviert werden kann und deshalb seine fungizide Wirksamkeit teilweise oder auch ganz verliert, wurde durch WILHELM 1944 und BIEDERMANN und MÜLLER 1951 nachgewiesen. Diese Inaktivierung kann zum Beispiel durch Traubensaft oder durch Blattausscheidungen hervorgerufen werden.

Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß dies der einzige Grund ist, welcher alle Bemühungen, eine Lösung in der Frage der chemischen *Botrytis*-Bekämpfung zu finden, zum Scheitern brachte. Es ist nicht zu vergessen, daß das Kupfer gegen die *Peronospora* noch heute eines der gebräuchlichsten und wirksamsten Mittel ist. Trotz der möglichen Inaktivierung ist es aus diesem Grunde wahrscheinlich, daß im Spritzbelag noch so viel aktives Kupfer übrigbleibt, welches genügen würde, die *Botrytis*-Sporen abzutöten, da ja die Empfindlichkeit derselben gegenüber Kupfer gleich groß ist wie diejenige der *Peronospora*-Sporen. Weiter ist noch zu erwähnen, daß über die Inaktivierung von organischen Fungiziden noch sehr wenig bekannt ist.

3. Die *Botrytis*-Infektionen spielen sich unter Verhältnissen ab, unter welchen die fungiziden Eigenschaften der geprüften Spritzmittel nur teilweise oder gar nicht zur Auswirkung gelangen können

Im Verlauf der Untersuchungen konnte immer wieder beobachtet werden, daß besonders nach Regenfällen die mehr oder weniger reifen Traubenbeeren aufsprangen. Besonders stark trat diese Erscheinung bei den Sorten Gamais précoce, Blauburgunder und Riesling × Silvaner auf. Bei der letztgenannten Sorte wurde die Infektion noch dadurch begünstigt, daß die Beeren vom Stiel abrissen. Sind die Beeren aber einmal verletzt, so sind sie fast schutzlos dem Erreger preisgegeben. Ein äußerlicher Spritzbelag hat in diesem Moment keine große Wirkung mehr. Wohl kann durch den Regen ein Teil des Wirkstoffes

in die Verletzungsstelle geschwemmt werden, wo er aber vermutlich einerseits durch den auftretenden Zellsaft teilweise inaktiviert wird, durch welchen aber andererseits die *Botrytis*-Konidien zur Keimung angeregt werden.

Der gleichen Ansicht ist Wilhelm 1952, welcher in seinen Versuchen nachwies, daß, wenn die Beeren einmal verletzt sind, die Bordeauxbrühe weder allein, noch in Verbindung mit Seife, Netz- und Haftmitteln den *Botrytis*-Befall zu verhindern noch nennenswert zu vermindern imstande ist.

Wiederholtes Spritzen ist mit den meisten Mitteln wegen der Beschmutzung der Trauben nicht möglich.

Im III. Kapitel konnte auch gezeigt werden, daß bei dichtbeerigen Trauben die direkte Bekämpfung darum keinen Erfolg verspricht, weil man mit dem Wirkstoff gar nicht vollständig an den Erreger herankommt. Dieser Fall konnte bei der Sorte Gamais précoce nachgewiesen werden und scheint bei allen dichtbeerigen Trauben vorzuliegen. Der Pilz kann sich anfänglich in saprophytischer Lebensweise im inneren Gefüge der Traube wie in einer Feuchtkammer aufhalten, wo er nur noch zu warten braucht, bis die Beeren zu reifen beginnen, um sie vom Stielansatz her von innen heraus zu infizieren. Ein äußerlicher Spritzbelag hat in diesem Moment keine große Wirkung, besonders da die Brühe nicht oder nur schwerlich zwischen den eng aneinandergepreßten Beeren hindurch ins Traubeninnere eindringen kann.

Angesichts der Mißerfolge, welche bis jetzt auf dem Gebiet der direkten *Botrytis*-Bekämpfung erzielt wurden, erhebt sich die Frage, ob man mit dieser Methode überhaupt einmal ans Ziel gelangen wird oder ob nicht ganz andere Wege eingeschlagen werden müssen. Auf die Frage, ob dies mit der Neuzüchtung *botrytis*-resistenter Traubensorten möglich sein wird, soll hier nicht eingegangen werden.

Nach diesen mehr praktischen Erörterungen ist es notwendig, noch einige theoretische Fragen zur Diskussion zu stellen.

Wie aus dem zweiten Kapitel der vorliegenden Untersuchungen hervorgeht, liegt bei den geprüften Traubensorten eine verschieden ausgeprägte Infektionsresistenz vor. Angeregt durch die Untersuchungen von Ainsworth, Oyler und Read 1938, welche bei Tomaten zwischen der Epidermisdicke und dem Befall durch *Botrytis cinerea* direkte Beziehungen feststellten, wurde in diesem Sinne versucht, auch an Trauben die Ursachen für die unterschiedliche Infektionsresistenz wie auch für die Abnahme derselben im Verlauf der Vegetationsperiode zu finden. Die Durchführung dieser Versuche schien um so mehr berechtigt, als auch andere Infektionskrankheiten wie die Fleckenbildung an Tomaten, hervorgerufen durch *Macrosporium tomato* Cke. (Rosenbaum und Sando 1920), und der Befall der Kartoffelknollen durch *Pythium de Barianum* Hesse (Hawkins und Rodney 1919) in engem Zusammenhang mit dem Perforationswiderstand der Epidermis stehen.

Myoshi 1895 ließ dünne Goldfolien von *Botrytis*-Keimschläuchen durchbrechen und stellte fest, daß sie einen Druck von etwa 0,1 at. entwickeln

können. Bei den eigenen Messungen sank aber der durchschnittliche Perforationsdruck bei keiner der geprüften Traubensorten unter 20 g, was umgerechnet für eine Nadel von 0,1 mm Durchmesser einem Druck von etwa 250 at. entsprechen würde. Es ist aber kaum wahrscheinlich, daß die Keimschläuche von *Botrytis cinerea* einen so hohen Druck entwickeln. Die Tatsache, daß aber trotzdem reichlich Infektionen erfolgen, läßt einerseits vermuten, daß der Pilz, vor allem bei reifenden Beeren, gar nicht die Kutikula zu durchbrechen braucht, um ins Beereninnere zu gelangen. Es ist durchaus denkbar, wie dies schon im II. Kapitel erwähnt wurde, daß von einem bestimmten Reifezustand an die Kutikula feine, von Auge nicht sichtbare Risse aufweist, durch welche der Pilz eindringen und die darunterliegenden subkutikularen Zellschichten enzymatisch auflösen kann. Die Erscheinung, daß bei der Sorte Blauburgunder schon *Botrytis*-Infektionen erfolgen können, wenn der gemessene Perforationswiderstand der Beerenhaut noch sehr groß ist, läßt sich auf diese Weise erklären.

Andererseits ist es aber auch möglich, daß die mit dem Apparat gemessenen Werte aus folgendem Grund gar nicht auf das Verhalten der *Botrytis*-Keimschläuche übertragen werden dürfen. Die Keimschläuche haben einen Durchmesser von etwa 4 μ, während derjenige der verwendeten Nadel 100 μ beträgt. Während die Keimschläuche wegen ihres geringen Durchmessers eine perforierende Wirkung ausüben, wird mit der Nadel möglicherweise nicht der Perforationswiderstand, sondern die Scherfestigkeit der Haut gemessen, das heißt aus der Beerenoberfläche eine Scheibe von 0,1 mm Durchmesser herausgestanzt. Diese beiden Vorgänge erfolgen aber unter verschiedenen Kräfteverhältnissen, so daß in diesem Falle die erhaltenen Zahlen nicht absolute, sondern nur relative Werte darstellen.

Zusammenfassung

1. Im Zusammenhang mit der direkten *Botrytis*-Bekämpfung konnte gezeigt werden, daß sich im Freien die Infektionsbedingungen für den Pilz von der Wirtsseite her so gestalten können, daß die fungiziden Eigenschaften chemischer Verbindungen nur teilweise oder gar nicht zur Auswirkung gelangen können. Diese Tatsache scheint neben anderen der Grund zu sein, warum einige unter Laboratoriumsbedingungen geprüfte Spritzmittel gegen *Botrytis* eine gute Wirkung zeigen, in der Praxis aber unter unseren klimatischen Verhältnissen unbrauchbar sind.
   Aus diesem Grund wurden die Infektionsbedingungen, wie sie sich für den Erreger von der Seite des Wirtes her gestalten, näher untersucht.
2. Die Infektionshäufigkeit durch *Botrytis cinerea* an Trauben ist einerseits sortenbedingt, andererseits wird sie durch den Reifegrad der Beeren beeinflußt. Während die Sorten Gamais précoce, Riesling × Silvaner und Blauburgunder gegenüber diesem Pilz anfällig sind, ist bei der Sorte Gutedel die Infektionshäufigkeit sowohl im Laboratorium als auch im Freiland gering. Mit fortschreitender Reife ist bei allen vier geprüften Sorten eine Zunahme der Infektionsanfälligkeit zu verzeichnen.

3. Es wurde ein Apparat beschrieben, mit welchem es möglich war, den Perforationswiderstand der Beerenoberhaut zu messen.
4. Ein direkter Zusammenhang zwischen Infektionshäufigkeit und Perforationswiderstand der Beerenoberhaut konnte nicht eindeutig nachgewiesen werden.
5. Die geringere Befallsstärke bei der Sorte Gutedel ist nicht nur auf eine größere Eindringungsresistenz, sondern auch auf eine größere Ausbreitungsresistenz im Innern der Beere zurückzuführen. Die Erkrankungsdisposition gegenüber *Botrytis cinerea* ist einerseits sortenbedingt (Gutedel-Blauburgunder), kann sich aber anderseits in einem gewissen Rahmen im Verlauf der Reifeperiode zu ungunsten des Wirtes verschieben.
6. Die Ausbreitungsresistenz scheint nicht auf mechanischen Hindernissen oder auf Abwehrreaktionen zu beruhen, sondern auf der chemischen Zusammensetzung des Zellsaftes. Ein Zusammenhang zwischen Zucker-, Gesamtsäuregehalt und pH-Wert des Traubensaftes einerseits und der Erkrankungsgeschwindigkeit anderseits konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Summary

1. Spraying experiments for the direct control of *Botrytis cinerea* proved that in the vineyard the conditions of infection from the side of the host plant can vary in such a way, that the fungicide properties of chemical compounds have partial or no effect. This fact seems to be a reason, why some fungicides, when tested under laboratory conditions give good results in the control of *Botrytis*, while sprayed in the vineyard they are practically useless under our climatic conditions. For this reason, further investigations were made about the conditions of infection from the side of the host plant.
2. The frequency of infection on the grapes by *Botrytis cinerea* firstly depends on the variety and is secondly influenced by the degree of maturity. While the varieties Gamais précoce, Riesling × Silvaner, and Blauburgunder are susceptible to this fungus the frequency of infection on the variety Gutedel remains small in the laboratory as well as in the vineyard. With the progression of maturity an increasing susceptibility of the four tested varieties is to be recorded.
3. An apparatus is described, which enables us to measure the resistance of the berry-skin to perforation.
4. A direct relation between the frequency of infection and the resistance of the berry-skin to perforation could not be proved with certainty.
5. The smaller degree of *Botrytis* rot on the variety Gutedel is caused not only by a higher resistance to infection but also by a higher resistance to expansion of the fungus within the berries. On one side the resistance against the expansion of *Botrytis cinerea* depends on the variety (Gut-

edel-Blauburgunder) and on the other side it decreases during the periode of maturity.

6. The resistance to expansion within the berries seems to be connected neither with the mechanical properties of the host tissue nor with reactions of the host plant, but with the chemical composition of the cell sap. A correlation between the amount of sugar and acid, the pH-value and the rate of fungus growth could not be demonstrated.

Literaturverzeichnis

AINSWORTH, G. C., OYLER, E. and READ, W. H., 1938: Observations on the spottings of tomato fruits by *Botrytis cinerea.* Ann. of appl. biol. **25**.

BIEDERMANN, W. und MÜLLER, E., 1951: Die Inaktivierung des gelösten Kupfers (II) in Fungiziden. Phytopath. Ztschr. **18**.

BLACKMAN, F. R. S. and WELSFORD, F. L. S., 1916: Studies in the physiology of parasitism. II. Infection by *Botrytis cinerea.* Ann. of bot. **30**.

BLUMER, S., 1947: Versuche zur Bekämpfung der Graufäule. Schw. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau **56**.

— — und GONDEK, J., 1946: Über die Wirkung des Oxychinolins auf *Botrytis cinerea.* Ber. d. schweiz. Bot. Ges. **56**.

BRANAS, J., 1946: Pourriture grise. Progr. agr. et vitic. **63**, No. 33—34.

BROWN, W. M. A., 1916: Studies in the physiology of parasitism. III. On the relation between the infection drop and the underlying host tissue. Ann. of bot. **30**.

GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre, 2. Aufl. Verlag Birkhäuser, Basel.

HAWKINS, A. and RODNEY, B., 1919: Physiological study on the parasitism of Pythium de Barianum Hesse on the potato tuber. Jour. of agr. res. **18**.

HENGL, F., 1933: Die Bekämpfung der Stielfäule der Trauben. Das Weinland **5**.

ISTVANFFY, J. VON, 1904: Über grundlegende Versuche zum Schutz gegen *Botrytis* und *Monilia.* Zbl. f. Bakt. II/**14**.

KRAMER, O., 1926: Die Stielfäule der Reben und ihre Bekämpfung. Der Weinbau **25**.

MÜLLER-STOLL, W., 1950: Versuche zum Problem der Wirksamkeit von Seifen- und Seifenersatzmitteln gegen den Traubenschimmel *(Botrytis cinerea).* Phytopath. Ztschr. **17**.

MÜLLER-THURGAU, H., 1888: Über Veränderungen, welche die Edelfäule an den Trauben verursacht und über den Werth dieser Erscheinung für die Weinproduktion. (Vortrag bei Gelegenheit des 10. Deutschen Weinbau-Congresses in Freiburg im Br.) Druckerei von Zabern, Mainz.

— —, 1888: Die Edelfäule der Trauben. Landwirtsch. Jahrb. **17**.

MYOSHI, M., 1895: Die Durchbrechung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrb. f. wiss. Bot. **28**.

NELSON, K. E., 1951: Factors influencing the infection of table grapes by *Botrytis cinerea.* Phytopath. **41**.

NIEMEYER, L., 1938: Roter Brenner, *Botrytis* und Mauke. Wein u. Rebe **20**.

ROSENBAUM, J. und SANDO, CH., 1920: Correlation between size of the fruit and the resistance of the tomato skin to puncture and it's relation to infection with *Macrosporium tomato,* Cke. Amer. jour. of Bot. **7**.

WILHELM, A. F., 1944: Untersuchungen zur Frage einer chemischen Bekämpfung der Traubenfäule *(Botrytis cinerea).* Wein u. Rebe **26**.

— —, 1952: Stand der *Botrytis*bekämpfung im Weinbau. Der Deutsche Weinbau **6**, Nr. 4 u. 5.

ZILLIG, H., 1938: Die Traubenfäule *(Botrytis).* Biol. Reichsanstalt f. Land- u. Forstwirtsch. Flugblatt Nr. 160/61.

Kurze Mitteilungen

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc.

Vorläufige Mitteilung

Von

E. Gäumann, Ch. Stoll und H. Kern

Beim *Fusarium lycopersici* Sacc., dem Erreger einer infektiösen Welkekrankheit der Tomatenpflanzen, sind bis jetzt zwei Welketoxine isoliert worden, Lycomarasmin und Fusarinsäure.

Lycomarasmin ist ein Dipeptid (Plattner, Clauson-Kaas, Boller und Nager, 1948; Boller, 1951) und ist bis jetzt nur für das *Fusarium lycopersici* bekannt. Es schädigt zuerst die Blattspitzen, später die Interkostalfelder und bewirkt schließlich eine völlige Nekrose der Blattspreite (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950).

Fusarinsäure ist eine Pyridincarbonsäure und ist nicht für das *Fusarium lycopersici* spezifisch, sondern wird überdies auch von *Fusarium heterosporum* Nees, *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. und *Fusarium vasinfectum* Atk. gebildet. Es schädigt je nach dem pH nur die Interkostalfelder der Blätter oder auch die Stengel (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952).

Da rohe Kulturfiltrate des *Fusarium lycopersici* die Gefäße der Tomatenpflanzen bräunen, während Lycomarasmin und Fusarinsäure dies nicht tun, so muß das *Fusarium lycopersici* noch ein drittes Toxin bilden, das in besonderer Weise auf die Gefäßbündel wirkt. Wir haben dieses dritte Toxin schon in unserer obengenannten Fusarinsäure-Arbeit (1952, Seite 7) angekündigt; seither haben Scheffer und Walker (1953) in einer Publikation, die sich mit der Fusarinsäure-Arbeit kreuzte, diese Gefäßbräunung näher verfolgt.

Wir möchten nachstehend über diesen dritten Stoff kurz berichten und ihn Vasinfuscarin („der die Gefäße bräunende Stoff", von vas, das Gefäß, und infuscare, bräunen) nennen, da er spezifisch auf die Leitungsbahnen, also auf die Stengelgefäße und die Blattadern, wirkt und sie bräunt, während er z. B. die Grundgewebe der Stengel und die Interkostalfelder der Blätter nicht schädigt.

Bei den quantitativen Welkeversuchen nach der üblichen Methodik nehmen die Tomatenpflanzen je g Frischgewicht etwa 0,25 ml einer dem Kulturfiltrat entsprechend konzentrierten Lösung auf. Doch geht die Aufnahme des hochmolekularen Stoffes nur langsam vor sich und benötigt 10 bis 24 Stunden. Die nach beendeter Aufnahme erschlafften Pflanzen erholen sich, in Wasser zurückgestellt, wieder sehr rasch und können nach 48 Stunden ausgewertet, bonitiert werden.

Zur Gewinnung von vasinfuscarinhaltigem Kulturfiltrat wird der Pilz in Richard$_5$-Nährlösung in Standkulturen fünf bis sieben Wochen oder in Schüttelkulturen drei bis vier Tage bei 27 ° inkubiert. Das Kulturfiltrat wird durch ein Nylontuch vom Myzel getrennt und hernach am Wasserstrahlvakuum durch eine Papierfilternutsche abfiltriert. Die klare Lösung wird in einem Vakuum-Dünnschichten-Eindampfer (Typ Labor) der Luwa AG. in Zürich bei Temperaturen unterhalb 35 bis 40 ° auf ein Viertel ihres Volumens eingeengt und hernach mit dem doppelten Quantum Methanol versetzt, worauf sich ein gelblicher bis brauner, flockiger Niederschlag von Eiweißcharakter bildet. In der Kälte (+ 3 °) sedimentiert der Niederschlag innerhalb weniger Stunden, und die überstehende, vasinfuscarinfreie, methanolwässerige Lösung kann dekantiert werden. Eine optimale Erfassung des Niederschlages gelang mit einer bei 3—4 · 10^3 Umdrehungen in der Minute arbeitenden Durchlaufzentrifuge vom Typus Cepa. Aus zehn Liter Kulturfiltrat wurden etwa 5 bis 7 g Rohsubstanz erhalten.

Der zähe und klebrige Niederschlag wird im Porzellanmörser unter Methanol fein zerrieben, mehrmals am Vakuum mit Methanol oder Äthanol, Petroläther und Äther nachgewaschen und schließlich im Vakuumexsikkator während einiger Stunden über Calciumchlorid sicc. getrocknet. Das zum Schluß resultierende, braun- bis gelblichweiße Pulver enthält in Wasser gelöst den als einzigen die Gefäße der Tomatenpflanzen nekrotisch schädigenden Stoff Vasinfuscarin.

Der Stoff geht zum Teil in Wasser in Lösung, unter Bildung einer bräunlich-gelben, wahrscheinlich kolloiden Flüssigkeit. Ein Zentrifugieren der Lösung bei 3 · 10^3 Umdrehungen in der Minute während vier bis fünf Stunden in der Kälte ergab eine hellgelbe Lösung und ein schwarzbraunes Sediment, wobei ein großer Teil der Vasinfuscarin-Komponente im Sediment zurückblieb.

Eine vasinfuscarinwässerige Lösung weist ein pH von 7 bis 8 auf. Zugaben von 0,1 n NaOH bewirkten zunehmende Löslichkeit; bei pH 11 war die Lösung klar. Senkung des pH mittels 0,1 n HCl bewirkte eine Trübung. Jede bedeutende Veränderung des pH hatte einen starken bis totalen Verlust der Aktivität zur Folge, so daß eine Zerstörung des Vasinfuscarins durch pH-Änderungen naheliegen dürfte. Reinigungsversuche nach der Ionenaustauschmethode mit Amberlite JR 4 B und JR 120 ergaben keine Veränderung von Aktivität und Löslichkeit. Organische Lösungsmittel (Petroläther, Äther, Benzol, Essigester, Chloroform) scheinen den Stoff in seinen Eigenschaften nicht zu verändern.

Über die chemische Natur des Stoffes liegen noch keine abschließenden Ergebnisse vor; doch dürfte Vasinfuscarin zu den enzymatischen Eiweißstoffen gehören.

Vasinfuscarin wird nicht nur durch das *Fusarium lycopersici* gebildet, sondern es konnte ein Produkt mit ähnlichen bis gleichen Eigenschaften hinsichtlich Gewinnung, Aufarbeitung, gewissen chemischen Eigenschaften und pathogener Wirkung auch für das *Fusarium vasinfectum* Atk. und die *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. nachgewiesen werden, so daß eine Identität sämtlicher drei Stoffe naheliegen dürfte.

Literaturverzeichnis

Boller, A., 1951: Über Lycomarasmin, ein welkaktives Stoffwechselprodukt aus *Fusarium lycopersici* Sacc.. Inaug. Diss. E. T. H. Zürich, Nr. 2047, 122 S.

Gäumann, E., Naef-Roth, St. und Kobel, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Ztschr. **20**, 1—38.

— —, — — und Miescher, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Ztschr. **16**, 257—288.

Plattner, Pl. A., Clauson-Kaas, N., Boller, A. und Nager, U., 1948: Der hydrolytische Abbau des Lycomarasmins. Helv. chim. Acta **31**, 860—869.

Scheffer, R. P. and Walker, J. C., 1953: The physiology of Fusarium wilt of tomato. Phytopath. **43**, 116—125.

Besprechungen

Josserand, Marcel, La Description des Champignons supérieurs (Die Beschreibung der höheren Pilze. 338 S. mit 232 Abbildungen. Band XXI der Encyclopédie Mycologique, Verlag Paul Lechevalier, Paris, 1952.

Der Titel des Buches kann mißverstanden werden und bedarf daher einer Erläuterung. Unter höheren Pilzen werden hier nur die Hymenomyceten und die Gastromyceten verstanden. Andere Basidiomyceten und die ganzen Ascomyceten werden nicht behandelt. Das Buch gibt außerdem keine Beschreibung und keine systematische Übersicht der höheren Pilze, auch keinen Einblick in ihre Verwandtschaftsverhältnisse und Entwicklungsgeschichte. Vielmehr ist das Buch als Einleitung zu den zahlreichen, im gleichen Verlage erschienenen Werken von Herter, Maublanc und anderen Autoren über eßbare und giftige Pilze gedacht. Es soll vor allem den Anfänger mit den Grundlagen einer exakten Beschreibung und Bestimmung der Hut- und Bauchpilze vertraut machen. Inhalt und Zweck des Buches lassen sich wohl am besten in den Satz zusammenfassen: Wie beschreibe und bestimme ich einen höheren Pilz?

Dementsprechend stehen die morphologischen Merkmale und die anatomischen Eigentümlichkeiten der Pilze im Vordergrund. In dem ersten, als „Technique descriptive" bezeichneten Hauptteil des Werkes werden einleitend die technischen Hilfsmittel, insbesondere auch der Gebrauch des Mikroskopes beschrieben; als eigentliches und wichtigstes Arbeitsobjektiv für mykologische Untersuchungen wird das Immersionsobjektiv herausgestellt, worüber man wohl verschiedener Ansicht sein kann. Anschließend werden die makroskopischen Merkmale der Pilze behandelt, der Bau des Hutes, des Hutrandes, der Oberhaut, des Fleisches, der Lamellen, Poren und andere Teile des Fruchtkörpers, die Mycelien, die Milch bestimmter Pilze und die Farbe der Sporenmassen. Kürzere Abschnitte bringen Ausführungen über die Beschreibung von Geruch und Geschmack der Pilze.

Sehr ausführlich ist die Besprechung der mikroskopischen Merkmale. Nachdem die Herstellung der Schnitte, die Einschlußflüssigkeiten und Färbemethoden behandelt sind, werden anschließend im einzelnen die Basidien, Sporen, Cystiden, Hautgewebe, Pigmente, Aussehen der Hyphen u. a. gebracht.

Ein weiterer Abschnitt behandelt die verschiedenen Reaktionen der Pilzgewebe, insbesondere des Fleisches der Fruchtkörper auf chemische Reagentien. Hieran schließt sich die Besprechung der Standortsverhältnisse und Wachstumsbedingungen der Pilze. Der letzte Abschnitt befaßt sich mit der Anlage eines Pilzherbars und der Konservierung höherer Pilze zu Sammlungs- und Schauzwecken. Von allgemeinerem Interesse dürften hier die Erfahrungen des Verfassers über den Schutz der Herbarpflanzen gegen tierische Schädlinge sein, die bisher unsere Pilzsammlungen in besonderer Weise gefährdeten. Der Verfasser empfiehlt hier die Zugabe eines Tropfens einer Lösung der Gamma-Isomere von Hexapräparaten in Orthodichlorbenzol (20 g Hexamittel in 100 g Lösungsmittel). Dieses Verfahren bedeutet einen außerordentlichen Fortschritt gegenüber dem früheren Eintauchen der gesammelten Pilze in starke Sublimatlösung und sollte überhaupt allgemein für die Konservierung von Herbarpflanzen angewendet werden.

Den zweiten Hauptteil des Buches bildet das „Vocabulaire raisonné du Descripteur", also ein alphabetisches Vokabularium sämtlicher für die Beschreibung in Frage kommender Worte und Ausdrücke. Umfang und Inhalt dieses Vokabulariums zeigen, daß das Buch in erster Linie für Leser bestimmt ist, die sich in die Bestimmungsmethoden der höheren Pilze einarbeiten wollen, wobei nochmals darauf hingewiesen sei, daß es sich ausschließlich um Hut- und Bauchpilze handelt. Aber auch der Phytopathologe wird in dem Buch manches finden, das für ihn von Interesse ist. Referent braucht hier nur auf den Abschnitt über Beschreibung und Membraneigentümlichkeiten von Pilzsporen zu verweisen.

Gassner

Kišpatić, Josip, Fitopatološki Praktikum (Phytopathologisches Praktikum). 127 Seiten, Zagreb 1950. Preis 105 Din.

Dem Verfasser obliegt an der landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Zagreb der phytopathologische Unterricht. Das Buch ist aus dem Unterricht hervorgegangen und für diesen bestimmt. Vier einleitende Kapitel machen mit den Grundbegriffen der Phytopathologie und den für phytopathologische Arbeiten in Betracht kommenden Hilfsmitteln und Arbeitsmethoden bekannt. Sie bringen weiter eine gedrängte Übersicht der verschiedenen Fruktifikationsformen der Pilze und hieran anschließend einen Überblick über die Einteilung des Pilzreiches, der durch einen am Schluß des Buches gegebenen Bestimmungsschlüssel ergänzt wird.

Den Hauptinhalt des Buches bilden 50 Übungen, von denen jede für sich eine Einheit darstellt. In diesen Übungen werden wichtige Krankheiten durch Pilze, Bakterien und Viren behandelt, richtiger gesagt: es werden für die einzelnen Erreger die erforderlichen Untersuchungsanweisungen gegeben. Einige Übungen behandeln Herstellung, Wirkungsweise und Prüfung fungizider Pflanzenschutzmittel. Die Zahl der zum Teil recht einfachen, jedoch durchaus brauchbaren Abbildungen ist im Hinblick auf den behandelten Stoff mit 70 nicht sehr groß, aber doch ausreichend; denn der Benutzer des Buches soll sich seine Erkenntnisse nach den gegebenen Anweisungen und gestellten Fragen selbst erarbeiten.

Um einen Begriff von dem Inhalt dieser 50 Übungen zu geben, sieht Referent keine andere Möglichkeit, als ein Kapitel herauszugreifen und hier wiederzugeben.

Übung 4. Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel. Untersuchungsmaterial im Sommer: kranke Blätter der Kartoffelpflanze, im Winter: kranke Kartoffelknollen und fixierte kranke Blätter. Übungsarbeiten:

1. Einlegen der kranken Blätter in feuchte Kammern.

2. Nach 24 Stunden Untersuchung der Blätter: Farbe der Flecken? Scharfer Rand oder nicht? Flecken am Rande oder in Mitte der Blattflächen? Flecken derb und trocken oder weich und faulig? Beobachtung der Blattunterseite: Weißer Pilzbelag am Rand oder auf der ganzen Fläche? Woraus bestehend? Warum nur am Fleckenrand? Blattunter- und -oberseite zeichnen.

3. Warum bei trockenem Wetter kein Pilzbelag? Welche Blätter zuerst und am stärksten befallen?

4. Vergleich phytophthorakranker Blätter mit *Alternaria solani*. Worin die Unterschiede? Beschreiben und aufzeichnen.

5. Flächenschnitte durch die untere Epidermis kranker Blätter. Methodik der Flächenschnitte. Zunächst bei schwacher Vergrößerung beobachten. Natur der baumartigen Verzweigungen? Septiertes Myzel? Kommt dieses von der Oberfläche oder aus Spaltöffnungen?

6. Untersuchung bei starker Vergrößerung: Bildung der Konidien an den Trägerspitzen? Form der Konidien? Unterschied zwischen Basis und Scheitel?

7. Beobachtungen im hängenden Tropfen: Material aus der feuchten Kammer entnehmen. Direktes Licht vermeiden. Temperatur 14 bis 15 °. Erste Kontrolle der Keimung nach zwei bis drei Stunden. Mehrere Präparate prüfen. Folgende Phasen aufsuchen und zeichnen: Teilung des Zellinhaltes der Konidien. Aufplatzen an der Spitze. Austreten der Zoosporen. Bewegung derselben. In einem besonderen Präparat Jodjodkalilösung zugeben, Aufzeichnen der Zoosporen mit Geißeln. Weiterentwicklung der Zoosporen beobachten. Umwandlung in kugelige, unbewegliche Gebilde. Können Konidien direkt Keimschläuche bilden? Sind Konidien wirklich auch Konidien oder etwas anderes?

8. Untersuchung kranker Knollen: Querschnitte durch erkrankte Flächen. Tiefe und Konsistenz der Flecken? An Hand des Appelschen Atlas mit Fusariumfäule, Bakteriennaßfäule und Bakterienringfäule vergleichen. Zustandekommen der Knolleninfektion? Welche Knollen besonders stark infiziert? Eindringen des Pilzes? Bedeutung der Knolleninfektion für die Überwinterung? Wie entsteht die Primärinfektion im Frühjahr? Aufzeichnen des Lebenszyklus der Phytophthora, beginnend mit der Infektion der Knolle im August.

9. Maßnahmen gegen Phytophthora. Spritzung, wann, womit und in welcher Konzentration? Wieviel Flüssigkeit je ha?

Das vorstehende Beispiel zeigt, daß der Verfasser mit seinem Praktikum neue Wege gegangen ist, wenigstens ist dem Ref. kein Buch bekannt, daß in so kurzer und gedrängter Form den jungen Phytopathologen in die wichtigsten Fragen einführt und Anweisungen für eigene Untersuchungen gibt. Referent begrüßt dieses vom Verfasser geschaffene Praktikum, das bisher allerdings nur in kroatischer Sprache vorliegt. Der Verfasser hatte die Freundlichkeit, dem Referenten eine deutsche Übersetzung der wichtigsten Kapitel seines Buches zur Verfügung zu stellen. Referent glaubt, daß ein solches Buch vielleicht in etwas erweiterter Form auch unseren Studierenden der Phytopathologie und den mit dem Unterricht betrauten Dozenten und Assistenten durchaus erwünscht sei. GASSNER

Paech, K. und Simonis, W., Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. 252 Seiten mit 39 Abbildungen. Verlag Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1952. Ganzleinen 24,— DM. (Band I der Pflanzenphysiologischen Praktika.)

Das vorliegende Praktikum wird vielen Phytopathologen, vor allem auch denjenigen Studierenden, die sich später der Phytopathologie widmen wollen, gute Dienste leisten. Phytopathologie ist ja nicht einfach Bakteriologie oder Mykologie, sondern erfordert vor allem eine genaue Kenntnis der Pflanzen und ihrer Lebensvorgänge, die sich am besten durch eigene Versuche erwerben läßt.

Abschnitt I (Einführung und Vorbereitung) gibt Hinweise auf die Kultur der höheren Pflanzen und behandelt Sterilisation und Überimpfen, Ansetzen von Pufferlösungen, Abtrennung von Extrakten, Dialysierhüllen, Bestimmung von Blattflächen, Temperaturmessungen, spektroskopische Arbeiten und anderes.

Abschnitt II bringt Versuche über den Mineralstoffhaushalt der Pflanzen einschließlich Aschenanalysen und Aufnahme und Wirkung der Nährsalze.

Abschnitt III behandelt den Wasserhaushalt, Wassergehalt der Pflanzen, Diffusion, Osmose und Hydratur, den osmotischen Wert und die Saugkraft der pflanzlichen Gewebe, sowie Quellung, Wasseraufnahme, Wasserleitung und Wasserabgabe.

Abschnitt IV bis VI geben Versuche über das Durchlüftungsgewebe, den Wärmehaushalt und die Photosynthese einschließlich der Chloroplastenfarbstoffe wieder. Der letzte, besonders umfangreiche Abschnitt VII beschäftigt sich mit dem Stoffwechsel weiterer organischer Verbindungen, der Eiweiße und Kohlenhydrate, der sekundären Pflanzenstoffe, der Enzyme und hieran anschließend mit Atmung und Gärung, sowie mit der Ernährung der Heterotrophen.

Die in dem Buch zusammengestellten Versuche lassen in allen Einzelheiten erkennen, daß die Verfasser sich selbst eingehend mit der behandelten Materie befaßt haben. Hierin liegt ein besonderer Vorzug des Werkes, das dem experimentell arbeitenden Phytopathologen helfen kann, die Versuchsmethodik weiter auszugestalten und unter Umständen bisher nicht benutzte Versuchsmöglichkeiten in seine Untersuchungen einzubeziehen. GASSNER

Rippel-Baldes, A., Grundriß der Mikrobiologie. 2. Auflage. Mit 153 Abbildungen, 404 Seiten. 1952. Verlag Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg. Ganzleinen 36,— DM.

Nach dem Vorwort des Verfassers ist die vorliegende zweite Auflage des Grundrisses der Mikrobiologie „stark umgearbeitet bzw. ergänzt", jedoch sei es „nicht die Absicht der Darstellung, alle neuesten Einzelheiten zu bringen, sondern einen festen Rahmen zu schaffen, in den neue Erkenntnisse jederzeit eingefügt werden können". Auf jeden Fall sind wesentliche Teile der im Jahre 1944 abgeschlossenen und wegen der Kriegs- und Nachkriegsverhältnisse erst 1947 erschienenen ersten Auflage unverändert übernommen. Das gleiche gilt auch für die überwiegende Mehrzahl der Abbildungen, deren Zahl nur unbedeutend, von

143 auf 153, erhöht wurde. Neuere elektronenoptische Aufnahmen finden sich nicht unter diesen Abildungen, was doch wohl der heutigen Wichtigkeit der Elektronenmikroskopie nicht genügend Rechnung trägt. Immerhin soll anerkannt werden, daß an anderen Stellen der neuen Auflage wichtige Ergänzungen Aufnahme gefunden haben.

Was aber in der nunmehrigen zweiten Auflage völlig und bis in Kleinigkeiten hinein beibehalten wurde, ist die Stoffeinteilung und Disposition des Werkes. Ref. kommt nicht darum herum, auf diesen wunden Punkt der vorliegenden Mikrobiologie etwas ausführlicher einzugehen und für weitere Auflagen eine Umgestaltung dringend zu empfehlen. Eine einigermaßen geschlossene Darstellung zeigen nur die beiden Abschnitte Baustoffwechsel und Betriebsstoffwechsel; die Abschnitte Bau der Zelle und Stellung der Mikroorganismen in der Natur weisen nach wie vor einen stark heterogenen Charakter der einzelnen Teile auf und enthalten vielfach Themata, deren Behandlung an der jetzigen Stelle kaum vermutet wird. Im Abschnitt Bau der Zelle werden durchaus nicht nur anatomische Fragen besprochen, sondern auch die ganze Entwicklung der Organismen behandelt; außerdem wird auch noch eine systematische Übersicht des Pilzreiches gegeben, und die Fruktifikation der Pilze und Bakterien an dieser Stelle gebracht. Der Abschnitt Stellung der Mikroorganismen in der Natur zeigt ein besonders buntes Bild. Zahl und Verbreitung der Mikroorganismen, dann nochmals Verbreitung der Mikroorganismen, sodann Zusammenleben der Mikroorganismen, Unterabschnitte: Kreislauf der Stoffe, Metabiose und Teilkreisläufe, Epiphytismus und Symbiose, Mikroorganismen und Mensch, und schließlich Parasitismus. Es ist nicht leicht, sich in dem Buch über bestimmte Fragen zu orientieren, zumal durch die vorgenommene Gliederung auch natürliche Zusammenhänge auseinandergerissen werden. Der Kreislauf des Kohlenstoffs und Stickstoffs findet sich nicht im Abschnitt Baustoffwechsel unter Kohlenstoff und Stickstoff, auch nicht im Anschluß an die Atmung und den Abbau der Stickstoffverbindungen behandelt, sondern wesentlich später zwischen Verbreitung der Mikroorganismen, dem C : N-Verhältnis im Boden und Humusboden. Allerdings muß anerkannt werden, daß das wirklich gute alphabetische Inhaltsverzeichnis einen gewissen Ausgleich schafft.

Eine allen Ansprüchen und Wünschen Rechnung tragende Stoffeinteilung muß schon im Hinblick darauf stets auf Schwierigkeiten stoßen, daß die Mikrobiologie die verschiedensten Gebiete erfaßt oder doch für sich in Anspruch zu nehmen sucht. So führt die Frage der Stoffeinteilung gleichzeitig zu der bisher ungelösten Grundfrage nach der Umgrenzung der Mikrobiologie und ihrer Abgrenzung von anderen naturwissenschaftlichen Disziplinen. Mikrobiologische Probleme gibt es in den verschiedensten Gebieten, in der Botanik, in der Zoologie, in der Medizin, in der Landwirtschaft, in der Enzymologie, in der Technik, in der Geologie und noch anderwärts. Es erscheint dem Ref. unmöglich, alle diese großen Gebiete unter mikrobiologischen Gesichtspunkten zusammenzufassen, sie zu einer einheitlichen Fachrichtung zu verschmelzen und dabei gleichzeitig zu einer strafferen Gliederung eines Grundrisses der vom Verfasser als „Mittler im Stoffumsatz der Natur“ bezeichneten Mikrobiologie zu kommen. Nicht alle mikrobiologischen Gebiete anderer Disziplinen und Fächer brauchen in einem Grundriß der Mikrobiologie angesprochen zu werden. Vor allem sollten Gebiete, die sich anderweitig bereits ausreichend behandelt finden, in einer Mikrobiologie nicht ohne ganz zwingende Gründe aufgenommen werden. Es hat doch keinen Zweck, wie es der Verfasser tut, Pflanzenkrankheiten, wie die Streifenkrankheit der Gerste, die Brandkrankheiten des Getreides oder die wirtswechselnden und nichtwirtswechselnden Rostpilze, in einen Grundriß der Mikrobiologie einzubeziehen und dazu dann noch die Resistenz- und Immunitätszüchtung zu behandeln.

In einem zu weit gespannten Rahmen eines Grundrisses liegen besondere Gefahren; hierin sieht Referent auch den letzten Grund für die unbefriedigende Stoffeinteilung des vorliegenden Grundrisses. Ausführungen, in denen sich das Gemeinschaftliche der mikrobiologischen Untersuchungsergebnisse auf verschiedenen Gebieten zusammengefaßt findet, werden stets begrüßt werden; eine zu große Detaillierung aber sollte vermieden und damit Platz für allgemeine mikrobiologische Fragen freigemacht werden, die sich, wie z. B. das Plankton der Gewässer, das Edaphon des Bodens und die nichtpilzlichen Mikroorganismen nicht ausreichend behandelt finden.

Wenn so auch Wünsche für eine künftige Neugestaltung des Grundrisses der Mikrobiologie geäußert werden müssen, so bedeutet dies in keiner Weise eine Ablehnung der in guter Ausstattung herausgebrachten und auch nicht zu teuren zweiten Auflage des bekannten Buches. Ein großes Material ist in ihm zusammengetragen; auch sprechen aus dem Buch die jahrzehntelangen Erfahrungen eines bekannten und verdienten Forschers. Das Buch hat bisher schon eine bestehende Lücke ausgefüllt und wird dies bestimmt auch in der Form der neuen Auflage tun.

Gassner

Schropp, Wilhelm, Die Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen. (Der Vegetationsversuch 1, VIII. Band im Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsmethodik.) Mit einem Anhang: Nährstoffmangel-Erscheinungen an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Verlag Neumann, Radebeul und Berlin, 1951; 314 S. mit 66 Abbildungen und 2 Farbtafeln.

Die Kenntnis der Methodik der Wasserkultur höherer Pflanzen ist auch für den Phytopathologen von Wichtigkeit. Referent hält es deshalb für zweckmäßig, nachdrücklich auf das vorliegende Werk hinzuweisen. Abschnitt I gibt eine kurze Übersicht, Abschnitt II behandelt auf 89 Seiten die Technik der Wasserkultur: Zeitpunkt der Versuchsanstellung, Beschaffenheit der Kulturgefäße (Werkstoffe, Gefäßdeckel, Umhüllung der Gefäße und besondere Einrichtungen), die erforderliche Größe der Gefäße, die Vorbereitung der Pflanzen, den Aufstellungsort der Gefäße, die Maßnahmen des Versuchsverlaufes und schließlich Ernte und Bestimmung der Erträge.

Abschnitt III ist der Nährlösung gewidmet; behandelt werden: das verwendete Wasser, bei Sandwasserkulturen der benutzte Sand, die Zusammensetzung der Nährlösung einschließlich Algenkultur und Spurenelementen und die Behandlung der Nährlösung während des Versuches.

Der sehr umfangreiche Abschnitt IV berichtet über die mit den verschiedenen Kulturpflanzen in Nährlösung gemachten Erfahrungen, Abschnitt V über die Anwendung der Wasserkultur für wirtschaftliche Zwecke.

Die Darstellung ist sehr übersichtlich und enthält alles Wissenswerte; sie ist auch ausreichend mit erläuternden Abbildungen versehen, so daß das vorliegende Werk auch aus diesem Grunde nur empfohlen werden kann. Für den Phytopathologen hat der als Abschnitt VI gebrachte Anhang: Nährstoffmangelerscheinungen an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen besonderes Interesse. Behandelt werden Kalziummangel, Mangel an Stickstoff, Schwefel, Eisen, Bor, Mangan, Kupfer und Zink. Gute, zum Teil farbige Abbildungen illustrieren in ausgezeichneter Weise die verschiedenen Mangelerscheinungen.

Gassner

Zur Diagnose der Steinobstvirosen

Von

F. Kobel, Berkeley, Kalifornien[1])

Mit 6 Abbildungen

Im europäischen Obstbau sind die Steinobstvirosen ein neu auftretendes Problem. Die Pfeffingerkrankheit der Kirsche (Blumer und Meyer 1947, Blumer und Geering 1950) ist die erste derartige Krankheit, die besorgniserregende Ausmaße annimmt. Im Gegensatz dazu leidet der amerikanische Obstbau schon seit langer Zeit unter Virosen, von welchen einige ganz beträchtliche Schäden verursacht haben. Das erste Auftreten einer Virusepidemie im Steinobstbau wurde bereits vor Beginn des 19. Jahrhunderts registriert; es war dies die infektiöse Gelbsucht des Pfirsichs (Peach Yellows). Von Philadelphia aus breitete sich diese Krankheit in relativ kurzer Zeit auf sämtliche damaligen Pfirsichanbaugebiete der Vereinigten Staaten aus. Sie verursachte derart schwere Verluste, daß bereits im Jahr 1875 gesetzliche Erlasse zu ihrer Bekämpfung angeordnet wurden (Smith 1888). Seither, besonders von 1930 an, sind eine große Zahl neuer Steinobstvirosen in den USA aufgetreten; gegenwärtig sind ungefähr 50 mehr oder weniger leicht voneinander unterscheidbare Virosen bekannt, von denen mehr als ein Dutzend zu den verheerendsten Krankheiten im Obstbau gehören.

Es ist somit verständlich, daß die amerikanischen Fachleute ihren europäischen Kollegen gegenüber eine reiche Erfahrung auf diesem Gebiet voraushaben. Die amerikanische Literatur ist außerordentlich reich an Publikationen über Steinobstvirosen. Glücklicherweise lassen sich die Erkenntnisse, die in Amerika gewonnen wurden, ohne weiteres auf die europäischen Verhältnisse übertragen; die Steinobstvirosen haben trotz der großen Unterschiede in den Symptomen und der Gefährlichkeit der verschiedenen Krankheiten außerordentlich viele gemeinsame Züge, und die Unterschiede zwischen der Pfeffingerkrankheit und entsprechenden amerikanischen Erscheinungen sind sicher nicht grundsätzlicher Natur. Es ist deshalb für den europäischen Obstbau wichtig, sich die amerikanischen Erfahrungen zunutze zu machen, um mit ihrer Hilfe bestehende Krankheiten zu bekämpfen und das Umsichgreifen neuer zu verhindern.

Die wichtigste Voraussetzung zur Erreichung dieses Zieles ist eine zuverlässige Diagnose. Da es bis jetzt nie gelungen ist, eindeutige Virus-

1) Der Verfasser möchte der Schweizerischen Stiftung für biologisch-medizinische Stipendien, die ihm durch großzügige Zuwendungen einen zweijährigen Studienaufenthalt an der University of California, Dept. of Plant Pathology, Berkeley, Calif., ermöglichte, an dieser Stelle seinen herzlichsten Dank aussprechen.

partikel in erkrankten Prunoideen zu finden, sind die bei Mykosen und Bakteriosen angewendeten Methoden (Isolierung und Identifizierung des Erregers) in diesem Fall nicht brauchbar. Das Erkennen der Krankheit beruht deshalb in überwiegendem Maße auf der Beobachtung der Krankheitssymptome.

Im folgenden seien die wichtigsten äußerlichen Symptome, die von Steinobstviren an verschiedenen Organen hervorgerufen werden, zusammengestellt:

I. Krankheitssymptome

Blattsymptome

Die meisten Steinobstviren beeinflussen in erster Linie das Blattwerk der befallenen Wirte. Dabei können einerseits morphologische Veränderungen (z. B. Kleinblättrigkeit, Verkrümmung der Spreiten, Auswüchse an der Blattunterseite) auftreten, ohne daß die Physiologie des Blattes gestört zu sein scheint; anderseits kann sich die Krankheit vorwiegend in physiologischen Störungen (mangelhafter Austrieb, frühzeitiger Blattfall, Vergilbungen, Flecken, Nekrosen) äußern, ohne daß die Morphologie des Blattes verändert zu sein braucht. Meistens jedoch kommen beide Symptomkomplexe nebeneinander vor, und die vorliegende Einteilung ist etwas willkürlich.

a) Morphologische Veränderungen

Kleinblättrigkeit ist in vielen Fällen das weitaus auffälligste Symptom, so auch bei der Pfeffingerkrankheit. Von den in den USA beschriebenen Krankheiten des Pfirsichs tritt Kleinblättrigkeit hauptsächlich bei Yellows (SMITH 1888), Peach Rosette (MCCLINTOCK et al. 1951) und Pfirsich-Mosaik (HUTCHINS 1932) auf, ferner auch bei Yellow Bud Mosaic (THOMAS et al. 1944), wo die Blattbildung wegen gestörten Knospenaustriebs sogar ganz unterbleiben kann. Auch bei den meisten Kirschenviren ist Kleinblättrigkeit eines der am regelmäßigsten auftretenden Symptome. Einzig einige Krankheiten, die sich hauptsächlich an den Früchten äußern, sowie bei der Gruppe der Rostfleckenkrankheiten (Rusty Mottle), ist diese Erscheinung weniger ausgeprägt.

Verkrümmungen der Blattspreite können verschiedene Ursachen haben. Sie entstehen häufig dadurch, daß das Wachstum der Blattnerven gestört ist (Phloemstörung), während die Entwicklung der Interkostalfelder wenig oder gar nicht beeinflußt wird. Meistens erfolgt die Störung nicht über das ganze Blatt, sondern nur an lokalisierten Stellen. Dies ergibt neben Verkrümmungen auch einseitige oder unregelmäßige Blätter, wie z. B. bei Cherry Rugose Mosaic (THOMAS und RAWLINS 1939). Distortionen entstehen ferner auch, wenn die Mittelnerven der Blätter Krümmungen oder scharfe Knickungen aufweisen, wie dies bei der Pfeffingerkrankheit beobachtet worden ist. Besonders auffällige Blattsymptome kennzeichnen die als Rasp Leaf bezeichnete Kirschenkrankheit (BODINE und

Newton 1942). Dort verlaufen die Seitennerven der Blätter auf längeren Strecken parallel zur Mittelrippe. Dadurch wird die Blattspreite eng gefältelt, und es können zackige, fast blattähnliche Auswüchse auf der Blattunterseite auftreten. Gleichzeitig treten noch andere Distortionen auf, und die Blätter sind in der Regel kleiner.

Abb. 1. Gehemmter Knospenaustrieb, verursacht durch Willow Twig auf Pfirsich. Nur endständiges Blattbüschel ausgebildet. Blütenknospen trieben aus, junge Früchte werden nicht ausreifen

Eine andere Form von Blattdeformationen zeigen die Blattrollkrankheiten. Diese sind auch von anderen Kulturpflanzen her bekannt, z. B. Blattrollkrankheit der Kartoffel, Curly Top der Tomate u. a. Bei den Steinobstvirosen zeichnet sich vor allem eine in Kalifornien neu aufgetretene Pfirsichkrankheit durch Blattrollerscheinungen aus. Dabei vergilben die eingerollten Blätter gleichzeitig mehr oder weniger; deshalb wird die Krankheit als Yellow Leaf Roll bezeichnet (Schlocker und Nyland 1951).

b) Physiologische Störungen

Verschiedene Virosen sind durch gehemmten Knospenaustrieb gekennzeichnet. Diese Störung kann so weit gehen, daß die Knospen überhaupt nicht austreiben. Dies gilt besonders für eine Krankheit der Mandel, Drake Almond Bud Failure (Wilson und Stout 1951), wo häufig nur noch die Endknospe eines Zweiges Blätter bildet. Falls auch diese von der Krankheit erfaßt wird, stirbt der betreffende Zweig ab. Ähnliche Erscheinungen lassen sich bei Willow Twig des Pfirsichs (Abb. 1)[1] (Thomas 1949) und bei Lambert Mottle der Süßkirsche (Lott 1945) beobachten. Bei

[1]) Die Abbildungen stammen aus der Sammlung des Dept. of Plant Pathology, University of Calif. (Dir.: Dr. M. W. Gardner). Für ihre Zurverfügungstellung sei hier herzlich gedankt.

der Yellow Bud Mosaic-Krankheit des Pfirsichs treiben die meisten Knospen noch aus, aber verspätet, und die entstehenden Blätter werden nur wenige Millimeter lang und sind blaßgelb. Nach einer längeren Ruhepause können sie gelegentlich weiterwachsen; sie erreichen aber nie normale Größe (THOMAS et al. 1944). Neben diesen schwerwiegenden Schädigungen bewirken verschiedene Virosen nur eine Verzögerung des Austriebs. Dies gilt im besonderen für Peach Mosaic, eine der gefährlichsten Pfirsichkrankheiten in den südlichen Staaten der USA. Neben verspätetem Austrieb kennzeichnet sie sich noch durch eine große Zahl anderer Symptome. Verspäteter Austrieb wird gelegentlich auch bei der Pfeffingerkrankheit festgestellt.

Im Gegensatz dazu treiben bei Peach Yellows die Knospen im Frühjahr verfrüht aus, und die an den neuen Trieben gebildeten Seitenknospen wachsen noch im selben Jahr zu Blattbüscheln oder kleinen Seitenzweigen aus.

Eine größere Zahl von Virosen äußert sich in irgendwelchen Verfärbungen. Diese können in allen Abstufungen von leichten gelblichen oder rötlichen Farbnuancen bis zu totalen Chlorosen auftreten. Bei gewissen Virosen lassen sich Verfärbungen nur dann feststellen, wenn man das gesamte Blattwerk eines erkrankten Baumes mit dem eines gesunden vergleicht. An einzelnen Blättern, besonders wenn kein gesundes Vergleichsmaterial vorhanden ist, läßt sich die Krankheit in diesen Fällen nicht feststellen. Dies gilt im besonderen für die Phony-Krankheit des Pfirsichs (Georgia Off. State Ent. Bul. 78, 1934), wo die erkrankten Bäume durch dunkleres Blattwerk auffallen, sowie für die Buckskin-Krankheit der Kirsche (RAWLINS und THOMAS 1941), wo eine bronzefarbige Verfärbung oft das einzige Blattsymptom bleibt. Deutlichere Verfärbungen kennzeichnen die Yellow Leaf Roll-Krankheit des Pfirsichs, bei der die Blätter von befallenen Bäumen hellgrün oder orange verfärbt sein können, ohne ganz zu vergilben.

Totale Chlorose beobachtet man u. a. bei Peach Yellows und Yellow Bud Mosaic und vor allem bei Sour Cherry Yellows. Diese letzterwähnte Krankheit äußert sich nur auf Sauerkirschen in typischen Symptomen und bewirkt dort größere Ernteausfälle. Sie läßt sich aber ohne weiteres auf Süßkirschen übertragen, wo sie maskiert bleibt. Vermutlich sind die meisten Kirschbäume Amerikas Träger dieses Virus, ohne dadurch wesentlich geschädigt zu sein.

Wohl die wichtigste Symptomgruppe bei den Steinobstviren sind die Blattflecken, die in äußerst mannigfaltiger Art auftreten können und deshalb großen diagnostischen Wert haben. Viele Krankheiten werden danach als Mosaic oder Mottle (Flecken) bezeichnet, wobei es manchmal schwerhält, diese Begriffe auseinanderzuhalten, da je nach Jahreszeit, Sorte und Ernährungszustand des Baumes die fleckigen Verfärbungen verschieden gestaltet sein können. Typische Mosaikerscheinungen findet man bei Peach Mosaic, einer der gefährlichsten Pfirsichkrankheiten in Anbaugebieten mit warmem Klima. Sie zeigen sich besonders deutlich auf der Mandel und Zwetschge, die ebenfalls davon befallen werden können (BODINE 1941). Dasselbe gilt für Yellow Bud Mosaic des Pfirsichs, wo die

Symptome an befallenen Mandelbäumen ebenfalls deutlicher sind als auf Pfirsich. Bei Peach Calico, einer nur selten auftretenden Pfirsichkrankheit, sind die Blätter panaschiert; die verfärbten Stellen sind hellgelb oder fast farblos und scharf von den grünen abgegrenzt. Das Krankheitsbild ist sehr ähnlich demjenigen von genetischer Variegation, kann aber davon unterschieden werden (BLODGETT 1944). Bei der als Peach Blotch bezeichneten Pfirsichkrankheit sind die verfärbten Stellen blaßgrün bis gelbgrün, aber nie farblos (WILLISON 1946). Bei Kirschen treten typische Mosaiksymptome selten und nur zu bestimmten Jahreszeiten auf, so z. B. bei der Pfeffingerkrankheit und bei Cherry Rugose Mosaic. Dagegen kennzeichnet sich eine große Zahl von Kirschenvirosen durch interkostale, nicht scharf begrenzte Flecken, die als Mottle bezeichnet werden. Es sind fünf Kirschenvirosen bekannt, bei denen solche Flecken das wichtigste oder einzige Symptom sind. Sie werden demnach als Mottle Leaf, Rusty Mottle, Mild Rusty Mottle, Necrotic Rusty Mottle und Lambert Mottle bezeichnet. Das Auseinanderhalten dieser verschiedenen Krankheiten ist nur dem Spezialisten möglich.

In vielen Fällen werden solche Blattflecken im Verlauf der Vegetationsperiode nekrotisch und fallen aus. Das Krankheitsbild erinnert dann stark an Schrotschuß. Solche Schrotschußeffekte kennt man bei Pfirsichen besonders von der X-Krankheit im östlichen Teil der Vereinigten Staaten (STODDARD 1938) und der Western X-Krankheit in den Staaten Washington, Oregon, Kalifornien, Idaho, Utah und Colorado (Abb. 2). Die letzterwähnte Krankheit befällt neben Pfirsich auch die Kirsche, wo sie eine ebenso verheerende Krankheit (Buckskin, siehe unter Fruchtsymptome) verursacht, ohne dort aber diesen Typ von Symptomen auszulösen. Bei beiden X-Krankheiten werden die geschädigten Blätter zudem früh abgestoßen, so daß eine weitgehende Entblätterung resultieren kann. Bei den Kirschen tritt dieser Schrotschußeffekt besonders bei der Tatter Leaf-Krankheit auf, ohne Blattfall zur Folge zu haben (WILLISON und BERKELEY 1946). Ferner treten nekro-

Abb. 2. Blattsymptome, verursacht von Western X auf Pfirsich. Chlorotische Blattflecken, z. T. nekrotisch geworden und ausgestoßen (Schrotschußeffekt)

tische Blattflecken noch bei mehreren anderen Krankheiten auf, z. B. bei Necrotic Rusty Mottle der Kirsche (REEVES und RICHARDS 1946) und bei Necrotic Ring Spot der Sauerkirsche (BERKELEY 1948).

Blütensymptome

Diese treten neben den Blattsymptomen stark zurück. Verfärbungen und Fleckenbildung lassen sich ohnehin nur bei gefärbtblühenden Prunoideen beobachten, also beim Pfirsich und bei Ziervarietäten. So bewirkt das Virus des Pfirsich-Mosaiks weiße Flecken und Streifen auf den Blütenblättern. Dieselbe Erscheinung ist von verschiedenen andern Blüten her bekannt; so z. B. von der Tulpe (Brechen der Blüten, verursacht durch das Tulpenmosaikvirus) und gewissen Orchideen (JENSEN 1949).

In den meisten Fällen treiben die Blüten erkrankter Bäume normal aus; nur wo der Knospenaustrieb allgemein gehemmt ist, ist auch die Blütezeit verzögert. Das häufig beobachtete nahe Zusammenrücken der Blüten (Rosettenbildung) sei weiter unten besprochen.

Fruchtsymptome

Im allgemeinen ist bei erkrankten Bäumen sowohl die Qualität wie die Quantität der Früchte beeinträchtigt. Bei gewissen Virosen kann dadurch der wirtschaftliche Wert des Baumes stark herabgesetzt oder ganz zunichte gemacht werden, ohne daß der Baum sonst stark geschädigt zu sein braucht. In diesen Fällen sind die Fruchtsymptome von großem diagnostischem Wert. Meistens jedoch gehen Qualitätseinbußen und andere Schädigungen parallel.

Die Pfirsichvirosen kennzeichnen sich ganz allgemein durch verkleinerte Früchte; diese reifen oft nicht aus, sondern schrumpfen und werden frühzeitig abgestoßen, so z. B. bei der X-Krankheit und der Western X-Krankheit. Bei Peach Yellows werden die Früchte reif, aber die Reife ist verfrüht, die Früchte bleiben klein und geschmacklich minderwertig, und sowohl das Fruchtfleisch wie die Haut sind fleckig tiefrot verfärbt. Bei Little Peach ist die Reife verzögert, die Früchte klein und wertlos. Bei beiden Krankheiten sind die Samen verkrüppelt und nicht keimfähig. Besonders charakteristische Fruchtsymptome weist die Red Suture-Krankheit auf, die mit den vorerwähnten zwei Virosen offenbar nahe verwandt ist (CATION und BENNETT 1951). Die Fruchtnahtseite schwillt stark an, ist tiefrot verfärbt und reift viel früher als der Rest der Frucht. Dadurch werden die Früchte transportuntauglich, zudem sind sie klein und auch geschmacklich nicht vollwertig. Alle drei Krankheiten bewirken daneben andere Schädigungen, und die befallenen Bäume gehen in der Regel nach einigen Jahren ein. Im Gegensatz dazu ist die Phony-Krankheit in den Südstaaten der USA für den Baum nicht gefährlich. Befallene Bäume werden anfänglich nur wenig geschwächt, aber ihre Früchte werden von Jahr zu Jahr kleiner, bis der Baum jeden wirtschaftlichen Wert verloren hat. Die Krankheit läßt sich in ihrem Anfangsstadium nur schwer erkennen und hat deshalb

verheerende Ausmaße angenommen. Seit 1929 bestehen strenge Kontrollvorschriften, auf Grund derer 1 600 000 befallene Bäume vernichtet wurden. Eine Krankheit, die ausschließlich Fruchtsymptome bewirkt, ist die Warzenkrankheit des Pfirsichs (Wart Disease, Blodgett 1943 a). Dabei werden die Früchte durch warzenförmige Auswüchse und Harzfluß stark verunstaltet und wertlos. Bis jetzt ist die Krankheit von geringer wirtschaftlicher Bedeutung. Da jedoch infolge Fehlens von anderen Symptomen die Gefahr besteht, daß sie durch Baumschulen verschleppt wird, wird ihr die nötige Aufmerksamkeit geschenkt.

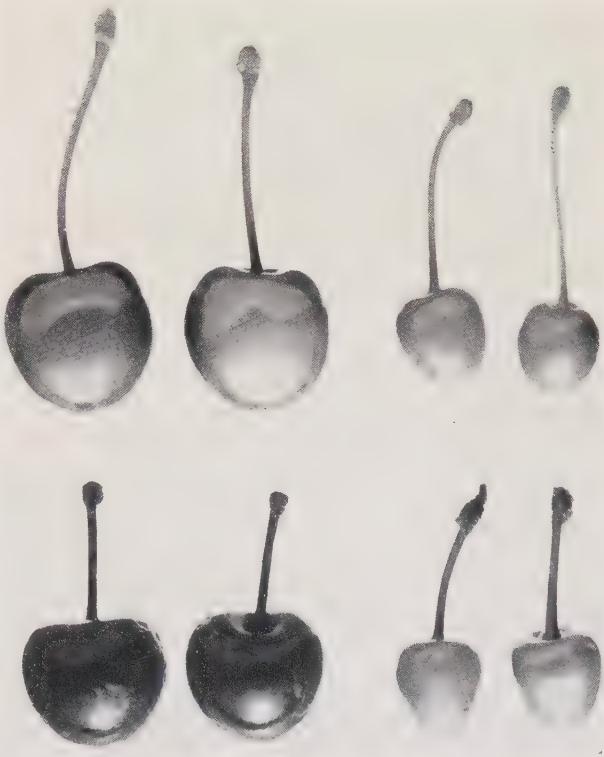


Abb. 3. Fruchtsymptome, verursacht durch Buckskin auf zwei verschiedenen Kirschensorten (oben Royal Ann, unten Bing). Kleinfrüchtigkeit, fehlender Glanz (nur deutlich bei Bing)

Kleinfrüchtigkeit ist ebenfalls ein Symptom verschiedener Kirschenvirosen. Dies ist vor allem der Fall bei einer Gruppe von Krankheiten, die mit der Western X-Krankheit des Pfirsichs verwandt zu sein scheinen. Für die Buckskin-Krankheit in Kalifornien konnte nachgewiesen werden, daß ihr Erreger identisch ist mit dem Western X-Virus (Rawlins und Thomas 1941). Dasselbe gilt für die als Western X-Little Cherry bezeichnete Kirschenkrankheit im Nordwesten der USA (Reeves et al. 1946). Bei beiden Krankheiten erreichen die Früchte kaum die halbe normale Größe, sie bleiben bei dunkelfrüchtigen Sorten hellgefärbt und sind in der Regel geschmacklich minderwertig. Buckskin (Hirschledrigkeit) kennzeichnet sich daneben deutlich durch die glanzlose, ledrige Beschaffenheit des Griffelendes (Abb. 3). Beide Virosen bewirken diese Symptome nur an Bäumen, die auf „Mazzard"-Unterlagen wachsen *(Prunus avium*-Wildlinge). Wo *Prunus mahaleb* als Unterlage verwendet wird, lassen sich nur undeutliche Fruchtsymptome beobachten, dafür treten schwere Blattschädigungen auf, die befallene Bäume in kurzer Zeit vernichten können (Rawlins und Parker 1934). Die in Oregon vorkommende Albino-Krankheit der

Kirsche bewirkt auf allen Unterlagentypen sowohl Kleinfrüchtigkeit wie verheerende Blattschädigungen. Die Früchte bleiben auch hier schwach gefärbt oder farblos. Dasselbe gilt für die Small Bitter Cherry-Krankheit in Britisch Columbien (LOTT 1947). Bis jetzt konnte bei diesen Virosen der Zusammenhang mit der Western X-Krankheit nicht erbracht werden. Da aber die Symptome weitgehend mit denjenigen von Buckskin und Western X-Little Cherry übereinstimmen, nimmt man an, daß es sich bei den Erregern um Mutationen des Western X-Virus handelt, die ihre Fähigkeit, auf Pfirsich zu parasitieren, verloren haben.

Zweigsymptome

Eine große Zahl von Steinobstvirosen äußern sich besonders deutlich durch gestörtes Triebwachstum. In den meisten Fällen tritt diese Störung in Form von Wachstumshemmungen (Zwergwuchs) auf; andere Virosen bewirken dagegen verlängerte Triebe.

Zwergwuchs (stunting) kennzeichnet z. B. die als Peach Rosette bezeichnete Pfirsichkrankheit in den Südstaaten der USA. Dabei wird das Längenwachstum des Zweiges kurz nach dem Austrieb stark gehemmt oder ganz unterdrückt. Die Blattknospen rücken dadurch ganz nahe zusammen, und die Blätter werden in buschigen Rosetten angelegt (SMITH 1891). Solche Rosettenblättrigkeit tritt ebenfalls bei Rosette Mosaic (CATION 1942) und Muir Peach Dwarf (HUTCHINS et al. 1951) auf. Weniger deutliche Wachstumseinschränkungen sind charakteristisch für die Phony-Krankheit, X- und Western X-Krankheit und Little Peach.

Identische Erscheinungen lassen sich auch an Kirschen beobachten, so bei einem Stamm der Buckskin-Krankheit, bei Albino, Mottle Leaf und bei der Pfeffinger-Krankheit. Weniger deutliche Wachstumshemmungen werden bei Rasp Leaf und Western X-Little Cherry beobachtet.

Im Gegensatz dazu bewirkt das Peach Yellows-Virus vermehrtes Triebwachstum. Häufig treiben die Seitenknospen erkrankter Äste und Zweige zu langen, dünnen, wertlosen Trieben aus, die dem Baum ein besenförmiges Aussehen verleihen.

Einige wenige Virosen verursachen auch Rindenschäden an Ästen und Zweigen und lassen sich dadurch leicht identifizieren. Auf Süßkirschen ist eine als Black Canker bezeichnete Krankheit bekannt, bei der die einjährigen Triebe als erstes Symptom Schwellungen aufweisen. Später brechen diese auf, und es entwickeln sich krebsartige Wunden, deren Größe von der Dicke des befallenen Astes abhängt. Als Folge dieser Wunden können die Äste gelegentlich absterben (ZELLER et al. 1947). Blatt- oder Fruchtsymptome treten bei dieser Krankheit nicht auf. Ähnliche Rindenschäden, begleitet von Wachstumsstörungen und Blattdeformationen, wurden bei orientalischen Zierkirschen (*Prunus serrulata*, Sorte Kwanzan) beobachtet (MILBRATH und ZELLER 1942).

Bei Prune Diamond Canker, einer ziemlich gefährlichen Zwetschgenkrankheit in Kalifornien, treten Symptome nur an älteren Ästen und am Stamm der befallenen Bäume auf. Die Krankheit bewirkt Borkenrisse und

krebsartige Wunden, durch die der Holzkörper bloßgelegt werden kann. Blatt- oder Fruchtsymptome sind nicht bekannt (SMITH 1932) (Abb. 4).

Im allgemeinen läßt sich auf Grund der Beobachtung von Symptomen allein eine Krankheit nicht mit Sicherheit als Virose identifizieren. Nur wo von vornherein großer Verdacht besteht, daß eine Krankheit aus benachbarten erkrankten Beständen oder aus verseuchten Baumschulen eingeschleppt wurde, können unmittelbar nach dem Auftreten der ersten typischen Symptome Bekämpfungsmaßnahmen angeordnet werden. Bei allen zweifelhaften Fällen sollte zuerst die Virusnatur der Krankheit mit Sicherheit experimentell bewiesen werden. Eine Krankheit wird nur dann als Virose anerkannt, wenn sie durch irgendeine Form von Gewebeunion vom erkrankten Wirt auf eine gesunde Pflanze übertragen werden kann, also durch Pfropfen, Ablaktieren oder Okulieren.

Abb. 4. Rindensymptome, verursacht von Prune Diamond Canker. Rindenrisse, Holzkörper z. T. bloßgelegt, krebsartige Überwallungswülste

Propfversuche spielen deshalb bei der Diagnose von Steinobstvirosen eine wichtige Rolle.

II. Pfropfversuche

Beim Pfropfen eines erkrankten Edelreises auf eine gesunde Unterlage (derselben Sorte) lassen sich drei Möglichkeiten erwarten:

1. Die Unterlage bleibt gesund, das Edelreis wächst symptomlos aus und bleibt gesund. In diesem Fall ist die Krankheit umweltbedingt (Mangelkrankheit, klimatische Schädigungen).

2. Die Unterlage bleibt gesund, das Edelreis behält die Krankheitssymptome unverändert bei. In diesem Fall ist die Krankheit genetischen Ursprungs.

3. Die Unterlage erkrankt nach kürzerer oder längerer Zeit (oft erst nach Jahren), das Edelreis bleibt krank. In diesem Fall ist die Krankheit als Virose gekennzeichnet.

Umweltbedingte Krankheiten mit virusähnlichen Symptomen

Die meisten Mangelerscheinungen können Symptome aufweisen, die gelegentlich mit Viruskrankheiten verwechselt werden. Gut bekannt ist die Chlorose, die allgemein auftritt, wo nicht genügend Eisen in aufnehmbarer Form vorhanden ist. Schwerer Stickstoffmangel kann ebenfalls Chlorose bewirken. Blattflekken, die häufig nekrotisch werden können, werden besonders bei Kali- und Magnesiummangel beobachtet. Zinkmangel bewirkt Kleinblättrigkeit und Rosettenbildung; die Symptome gleichen gewissen Viruskrankheiten so stark, daß die Zinkmangelkrankheit früher für Viruskrankheit gehalten und unter dem Namen Little Leaf beschrieben wurde (Abb. 5).

Abb. 5. Mangelkrankheit. Durch Zinkmangel verursachte Kleinblättrigkeit (Little Leaf) der Kirsche

Gelegentlich können auch Salzüberschüsse im Boden Viruskrankheiten vortäuschen. Bekannt sind Fälle von Arsenschäden an Pfirsichbäumen, die in ehemalige Apfelplantagen gepflanzt wurden. Das als Insektizid verwendete Arsen hatte sich im Boden derart angereichert, daß die Pfirsichblätter dadurch geschädigt wurden und Fleckennekrosen aufwiesen, als deren Ursache lange Zeit ein Virus gesucht wurde. Für eine gute Zusammenstellung derartiger Mangel- und Überschußkrankheiten sei auf das U. S. Department of Agriculture Agr. Handbook 10 (1951) hingewiesen.

Genetische Abnormitäten mit virusähnlichen Symptomen

Bei allen abnormen Blattformen oder Pigmentbildungen und ähnlichen Symptomen, die sich durch Pfropfung nicht übertragen lassen, und die auf Düngergaben und Standortsänderungen nicht reagieren, ist man gezwungen, anzunehmen, sie seien genetischen Ursprungs. Nichtübertragbarkeit widerspricht der gegenwärtig gültigen

Definition eines Virus. Charakteristisch ist der Vergleich zwischen der Virose Peach Calico und der genetischen Variegation des Pfirsichs. Beide Krankheiten bewirken sehr ähnliche Symptome, die sich nur vom Spezialisten äußerlich unterscheiden lassen (BLODGETT 1944). In den meisten Fällen gelingt es nur mit Hilfe von Pfropfversuchen, ihre Natur abzuklären. Eine andere genetische Abnormität mit virusähnlichen Symptomen ist die als Sweet Cherry Crinkle Leaf bezeichnete Krankheit (Abb. 6). Sie manifestiert sich in Kräuselungen der Blattspreite, unregelmäßigem

Abb. 6. Genetische Abnormität. Crinkle Leaf der Süßkirsche, veränderte Blattumrisse, Kräuselungen der Blattspreite

Bäume sind kleiner als normal und spärlich. Sehr häufig tritt die Krankheit nur an wenigen Ästen oder einzelnen Zweigen eines Baumes auf, während andere Bäume ganz erkrankt und dadurch wertlos sein können. Alle Übertragungsversuche blieben bis jetzt erfolglos, und obwohl Crinkle Leaf bis in alle Einzelheiten gewissen Virosen (z. B. Pfeffingerkrankheit) gleichen kann, läßt sie sich nicht als virusbedingt auffassen. Für ihren genetischen Ursprung spricht auch die Tatsache, daß F_1-Bastarde von kranken und gesunden Eltern häufig Symptome von Crinkle Leaf entwickeln. Almond Bud Failure gleicht der als Virose ausgewiesenen Drake Almond Bud Failure-Krankheit (siehe oben) ebenfalls in vielen Beziehungen. Der größte Blattumriß und fleckigen Verfärbungen; die Früchte erkrankter

Unterschied liegt darin, daß sich diese Knospenhemmung nicht übertragen läßt (STOUT und WILSON 1947). Ähnliche genetische Abnormitäten, die sich leicht mit Virosen verwechseln lassen, sind Sweet Cherry Deep Suture, die der Mottle Leaf-Krankheit gleicht (REEVES 1943), eine nicht infektiöse Schrotschußkrankheit von *Prunus munsoniana* und ihren Bastarden (SMITH und COCHRAN 1943), eine Blattfleckenkrankheit der Zwetschge (BLODGETT 1943 b) und eine andere Zwetschgenkrankheit, Prune Sparse Leaf, die sich durch spärliches Blattwerk und abnorme Wuchsformen kennzeichnet (BLODGETT 1947).

Alle hier erwähnten Krankheiten sind weder durch Pfropfung noch durch irgendwelche andere Methoden (Insekten) übertragbar. Sie lassen sich deshalb nicht als Virosen auffassen, ohne daß man den Begriff „Virus" revidiert. Die Erklärung, sie seien genetischen Ursprungs, ist ebenfalls nur provisorisch. Es läßt sich nicht sehr leicht vorstellen, daß eine einzelne Genmutation derartig mannigfaltige Symptome auslöst, wie z. B. Blattflecken, Deformation der Spreite, veränderte Blattumrisse, Kleinfrüchtigkeit bei Crinkle Leaf. Da die Biologie der Viren im allgemeinen, und besonders die der Steinobstviren, erst wenig abgeklärt ist, dürften in Zukunft andere Erklärungsmöglichkeiten für diese Krankheiten zu erwarten sein.

Pfropfversuche mit Indikatoren

Zur Bekämpfung von Steinobstvirosen sind bisher keine erfolgreichen therapeutischen Maßnahmen bekannt; ein erkrankter Baum ist deshalb von vornherein ganz entwertet, wenn er auch anfänglich noch einige Ernten liefern kann. Infolge der bestehenden Ansteckungsgefahr wird er am besten unverzüglich vernichtet. Dies bedingt, daß der Infektionsprophylaxe große Aufmerksamkeit geschenkt werden muß. Die meisten Virosen werden durch unsorgfältige Beschaffung von Edelreisern oder Unterlagenmaterial verschleppt. Die Bekämpfung der Steinobstvirosen beginnt deshalb notwendigerweise in den Baumschulen, die sorgfältig von jeglichem infizierten Material zu säubern sind. In den USA bestehen in vielen Staaten große „Nursery Improvement Programs", die unter Leitung von Virusspezialisten stehen. Dabei wird in der Regel so vorgegangen, daß zuerst möglichst gesunde, sortentypische Bäume ausgelesen werden. Diese werden in isolierten Parzellen auf virusfreiem Unterlagenmaterial vermehrt und dann den Baumschulen zur weiteren Vermehrung und Verteilung überwiesen. Sowohl die Vermehrungsparzellen wie die Baumschulen werden regelmäßig von Fachleuten kontrolliert. Auf diese Weise können Virosen, die deutliche Symptome bewirken und dadurch die Wirtspflanzen augenfällig schädigen, relativ leicht eingedämmt werden. Immerhin ist auch bei diesen große Vorsicht am Platz, da infizierte Jungbäume zwei oder drei Jahre nach der Veredlung noch symptomlos sein können und erst später erkranken.

Schwieriger gestaltet sich die Bekämpfung derjenigen Krankheiten, die in gewissen Wirten symptomlos auftreten oder nur geringfügige Schä-

den verursachen. Im besonderen gilt dies für Ring Spot, eine Krankheit, die ursprünglich auf Pfirsich gefunden und beschrieben wurde (COCHRAN und HUTCHINS 1941). Seither lernte man, daß diese Virose durch einen größeren Komplex verschiedener Virusstämme verursacht wird und auf allen *Prunus* Species vorkommt. Eine Komponente dieses Komplexes ist sicher das Necrotic Ring Spot-Virus der Sauerkirsche. Auf diesem Wirt tritt es ausschließlich in Gemeinschaft mit Sour Cherry Yellows auf (MOORE und KEITT 1944). Auf der Süßkirsche treten sowohl der Ring Spot-Virus-Komplex wie das Sour Cherry Yellows-Virus, das vermutlich auch aus mehreren Komponenten besteht, nur sehr undeutlich in Erscheinung. Höchstens während kurzer Zeit im Frühjahr lassen undeutliche chlorotische Ringe oder schrotschußartige Nekrosen auf das Vorhandensein dieser Viren schließen.

Während des längsten Teils der Vegetationsperiode ist der Viruskomplex maskiert. Trotzdem ist diese Krankheit für den Kirschenanbau von Bedeutung. Befallene Bäume zeigen geringeres Wachstum, und die daraus resultierenden Ernteausfälle werden bis auf 20 % geschätzt. Diese Tatsache trat erst in den letzten Jahren in Erscheinung, da vorher wegen der allgemeinen Verbreitung des Ring Spot im Nordwesten und vermutlich auch in anderen Teilen der USA kein gesundes Vergleichsmaterial vorhanden war.

In Oregon, wo man sich zuerst eingehend damit beschäftigte, wurde ein Verfahren ausgearbeitet, das gestattet, solche maskierten Viren auf relativ einfache Art nachzuweisen (MILBRATH und ZELLER 1948, MILBRATH 1952). Verschiedene *Prunus*arten reagieren beim Okulieren mit Ring Spot-haltigem Material auf charakteristische Weise und können dadurch als Indikatoren (Index hosts) verwendet werden. Virusfreie Sauerkirschen zeigen kurz nach dem Okulieren im Frühjahr einen Schockeffekt in Form von nekrotischen Ringen und Flecken und stark gehemmten Triebwachstum. Später im Sommer erholen sie sich und zeigen im nächsten Jahr nur noch milde Symptome. Weniger eindeutige Resultate zeigen sich beim Okulieren von virusfreien Pfirsichvarietäten. Je nach der Zusammensetzung des Viruskomplexes erscheinen mehr oder weniger deutliche Ringflecken. Bei besonders pathogenen Stämmen können auch Schockeffekte in Form von Nekrosen und Wachstumsstörungen auftreten. Die mildesten Ring Spot-Stämme bewirken keinerlei Reaktion. Ein etwas besserer Indikator ist die Sorte Kwanzan der Zierkirsche *Prunus serrulata*, obwohl auch hier milde Stämme von Ring Spot gelegentlich keine Symptome hervorrufen können. Die pathogensten Stämme bewirken schwere Schädigungen, die zum Absterben der Testpflanze führen können.

Im Gegensatz zu diesen Testobjekten, die auf das Ring Spot-Virus normergisch reagieren und dadurch systemisch erkranken, reagiert die Sorte Shirofugen von *Prunus serrulata* typisch hyperergisch. Kurz nach dem Okulieren bildet sich um die Infektionsstelle eine nekrotische Abwehrzone, und die infizierte Knospe wird ausgestoßen.

Infolge dieser Reaktionsnorm eignet sich Shirofugen außerordentlich gut als Indikator. Bei Sauerkirsche, Pfirsich und Kwanzan braucht man für jeden Test eine neue Pflanze; Shirofugen-Sträucher lassen sich mehrmals verwenden und können mit mehreren Knospen verschiedener Herkunft gleichzeitig okuliert werden. Durch besondere Schnittechnik wird dafür gesorgt, daß der Strauch möglichst lange, gleichmäßige, rutenförmige Äste bildet, auf denen die Knospen in Abständen von 5 bis 10 cm eingesetzt werden. Sobald die Testresultate abgelesen sind, werden die Äste entfernt, worauf sich neue bilden, die ebenfalls wieder als Testobjekt verwendet werden können. Ein weiterer Vorteil liegt darin, das Shirofugen auf alle Stämme von Ring Spot reagiert. Ein einziger Stamm ist bekannt, der in Shirofugen systemisch werden kann und dadurch den Strauch als Testobjekt entwertet. Dank dieses Verfahrens gelang es in Oregon innerhalb weniger Jahre, die Baumschulen so weit zu säubern, daß die Beschaffung von virusfreiem Material für Neupflanzungen von Kirschenplantagen sichergestellt ist. In anderen Staaten (Washington, Kalifornien, Idaho, Utah) sind Bestrebungen in dieser Hinsicht ebenfalls schon weit gediehen.

Selbstverständlich ist die Säuberung der Baumschulen nur der erste Schritt zur Eliminierung der Steinobstvirosen. Weitere wichtige Probleme bestehen darin, gesunde Neupflanzungen virusfrei zu erhalten. Die Frage, wie Virosen sich von einem Baum zum andern und von einer Plantage in die andere auf natürlichem Weg ausbreiten, ist noch nicht restlos abgeklärt. Für die meisten Pfirsichvirosen konnten Insekten als Vektoren nachgewiesen werden. Alle bisher erkannten Vektoren gehören zur Familie der *Cicadelidae* (Leafhoppers, Zwergzikaden). Auch die vom Western X-Komplex verursachten Kirschenvirosen (Buckskin, Western X-Little Cherry) konnten mit Hilfe von Zikaden übertragen werden. Bei einer großen Zahl anderer Virosen sind bis jetzt alle Vektorversuche fehlgeschlagen, so daß man noch keine Anhaltspunkte hat, wie man sich die natürliche Ausbreitung der Krankheiten erklären kann.

III. Chemische und physikalische Nachweismethoden

Ein spezifischer chemischer oder physikalischer Virustest wäre von außerordentlich großem Nutzen, besonders wenn es sich darum handelt, verdächtige Bäume zu untersuchen. Bei Übertragungsversuchen (Pfropfen) kann es mehrere Jahre dauern, bis eindeutige Resultate erhältlich sind. In dieser Zeit kann die Krankheit leicht um sich greifen, so daß schwere Schäden zu befürchten sind. Es wurden deshalb vielerorts große Anstrengungen unternommen, Labor- oder Feldteste zu finden, die eindeutig Auskunft über das Vorhandensein einer Virusinfektion geben können. Dabei wurden bis jetzt zwei Wege eingeschlagen: Chemische Verfahren, die spezifische Reaktionsprodukte des Wirtes auf Virusbefall nachweisen sollen, und physikalische Methoden (Absorptionsmessungen), die das Virus direkt zeigen können.

a) Chemische Testmethoden

Für die Phony-Krankheit des Pfirsichs wurde ein sehr einfacher Test ausgearbeitet, der sich bei der Untersuchung krankheitsverdächtiger Bäume gut bewährte. Aus möglichst unverletzten Wurzelstücken mit einem Holzzylinder von 1 bis 2 cm Durchmesser werden 1/2 bis 1 mm dicke Querschnitte hergestellt und diese in Salzsäure-Methylalkohol gebracht. Vor dem Test sollte das Holz weiß und ohne fleckige Verfärbungen sein. Bei erkrankten Bäumen bilden sich nach einigen Minuten im Reagens zahlreiche kleine, blaurote Flecken über dem ganzen Querschnitt des Holzkörpers. Wurzelschnitte gesunder Pflanzen bleiben unverfärbt (Georgia 1934). Für die Phony-Krankheit konnte durch Pfropfversuche nachgewiesen werden, daß das Virus hauptsächlich oder ausschließlich in den Wurzeln parasitiert. Während Pfropfungen mit oberirdischen Teilen fast durchweg negativ verlaufen, läßt sich die Krankheit durch Wurzelpfropfungen regelmäßig übertragen.

Lindner (1948) arbeitete ein Verfahren aus, das zur Untersuchung verschiedener Kirschen- und Pfirsichvirosen angewendet werden kann. Der Test gestattet, die Intensität der Reaktion des Wirtes auf einen Virusbefall quantitativ zu bestimmen und ermöglicht dadurch, zwischen milden und stark pathogenen Viren oder Viruskomplexen zu unterscheiden. Er beruht auf einer Farbreaktion zwischen Kupfersulfat in alkalischer Lösung und Polyphenolverbindungen, die in den Blättern als Antwort auf Virusbefall gebildet werden (Lindner et al. 1951). Das Resultat dieser Reaktion besteht in einer mehr oder weniger intensiven Rotfärbung, die sich kolorimetrisch messen und auswerten läßt. Das Verfahren hat den großen Vorteil, daß nur sehr wenig Testmaterial benötigt wird, und daß es leicht auch bei Felduntersuchungen anwendbar ist. Von jedem Baum werden dabei fünf Blätter von verschiedenen Ästen gesammelt. Nur Blätter von Kurztrieben eignen sich für den Test. Von diesjährigen Zweigen und Wasserschossen geben höchstens die ältesten Blätter zuverlässige Resultate. Aus jedem Blatt wird eine Scheibe von 6 mm Durchmesser ausgestanzt und diese in einem Reagensglas mit dem alkalischen Kupfersulfat während zehn Minuten in siedendem Wasser erhitzt. Blattscheiben von gesunden Bäumen werden gleich behandelt und dienen als Kontrolle. Die durch die Polyphenole bedingte Rotfärbung wird unter Verwendung eines geeigneten Filters im Kolorimeter gemessen. Die Resultate der fünf Teste jedes Baumes werden addiert und der Durchschnitt berechnet. Latente Viren und Viruskomplexe, die schwache Schäden verursachen, bewirken geringe Unterschiede gegenüber den Kontrollen. Virosen von mittlerer Intensität (Mottle Leaf, Rasp Leaf bei Kirsche) ergeben mittlere Rotfärbung, während die schweren Virosen (Severe Rusty Mottle, Western X-Komplex) die stärksten Reaktionen zeigen. Ein großer Nachteil dieses Testverfahrens liegt darin, daß vermehrte Polyphenolbildung in den Blättern der Prunoideen sehr unspezifisch ist. Sie wird auch ausgelöst durch Schrotschußbefall, Insektenschäden und verschiedene andere Umweltfaktoren.

Trotzdem dürfte der LINDNERschen Methode besonders für die Untersuchung latenter Virosen und milder Viruskomplexe gewisse Bedeutung zukommen.

b) Absorptionsmessungen

Die Nucleoproteine verschiedener Viren zeichnen sich durch charakteristische Absorptionskurven aus. Am besten untersucht sind die Verhältnisse beim Tabak-Mosaik-Virus (LAVIN und STANLEY 1937), wo TAKAHASHI (1951 a) ein Verfahren ausarbeitete, das gestattet, in Extrakten mosaikkranker Pflanzen quantitative Bestimmungen des Virusgehalts durchzuführen. Verschiedentlich wurde versucht, ähnliche Methoden auch bei den Steinobstvirosen anzuwenden, wo ein Virusnachweis besonders in symptomlosen Vorstadien verschiedener Krankheiten und bei latenten oder maskierten Virosen von großer Bedeutung wäre.

Am weitesten gediehen sind in dieser Beziehung Versuche von LINDNER, KIRKPATRICK und WEEKS (1952). Aus zwei Blattscheiben von 6 mm Durchmesser werden alle alkohollöslichen Substanzen mit warmem Aethylalkohol (70 %) extrahiert und die entfärbten Blattscheiben einer sauern Hydrolyse mit Salzsäure-Alkohol unterworfen. Die Hydrolysate werden im U-V-Spektrophotometer untersucht und Absorptionskurven im Bereich von 2300 Å bis 3000 Å mit Zwischenwerten von 20 Å aufgezeichnet. Gesunde Blattscheiben ergeben die typische Absorptionskurve von Nucleinsäuren mit dem Absorptionsmaximum bei 2600 Å. Bei kranken Blättern verschiebt sich das Maximum gegen 2700 Å und die Absorption wird gleichzeitig verdoppelt bis verdreifacht. Je nach dem Virus oder Viruskomplex wird die Absorptionskurve komplizierter. Bei komplexen Krankheiten, besonders bei Western X, treten mehrere sekundäre Maxima auf. Sour Cherry Yellows bewirkt ein charakteristisches sekundäres Maximum bei 2800 Å. Die Autoren sind der Ansicht, jedes dieser sekundären Maxima sei für ein bestimmtes Virus oder eine bestimmte Komplexkomponente typisch und eventuell durch die spezifischen Nucleinsäuren der betreffenden Viruspartikel bedingt. Diese spektrophotometrische Methode wäre somit ein ausgezeichnetes Verfahren, latente Viren oder symptomlose Krankheitsstadien nachzuweisen und zu identifizieren. Leider konnten diese günstigen Resultate bis jetzt von andern Forschern nicht bestätigt werden (BLODGETT et al. 1952). Vor allem ließ sich keine Korrelation zwischen Resultaten, die durch „indexing" gewonnen wurden, und Absorptionskurven vom gleichen Material nachweisen. Ferner bestehen sehr große Unterschiede zwischen Blattproben von verschiedenen Ästen, so daß die Methode vorläufig etwas unzuverlässig erscheint.

Bei eigenen spektrophotometrischen Versuchen stützte sich der Verfasser auf eine Beobachtung von G. W. COCHRAN (1951), der bei der Untersuchung von *Vinca* spec.-Pflanzen, die künstlich mit Western X infiziert waren, charakteristische Absorptionen beobachten konnte. COCHRAN behandelte Blattextrakte gesunder und kranker *Vinca*pflanzen in einer Ultra-

zentrifuge. Die suspendierten Zentrifugate zeigten entgegen aller Erwartung keine Unterschiede, dagegen traten in der geklärten flüssigen Phase von Extrakten kranker Pflanzen typische Absorptionsmaxima bei 2635 Å auf.

Der Verfasser untersuchte Pfirsichblätter von Bäumen, die an Western X, Yellow Bud Mosaic und Yellow Leaf Roll erkrankt waren, sowie zwei verschiedene Stämme der Buckskin-Krankheit auf Kirschen. Die kranken Blätter stammen einerseits von Ästen, die deutliche Krankheitssymptome aufwiesen, anderseits von symptomlosen Ästen; das gesunde Kontrollmaterial wurde in benachbarten Plantagen von gesunden Bäumen derselben Sorten gesammelt. Alle Blätter wurden kurz nach dem Sammeln in luftdichten Behältern eingefroren und erst unmittelbar vor dem Versuch bei 1 ° C aufgetaut. Von jeder Probe wurden Blattscheiben im Gesamtgewicht von 1 g ausgestanzt, in einem mit Eiswasser gekühlten „ground glass homogenizer" (Takahashi 1951 b) zerrieben und in 15 ccm eines Cystein-Phosphat-Puffers (1 Teil einer 1 % Cystein-HCl-Lösung + 1 Teil eines 0,1 mol. Phosphat-Puffers pH 7, resultierendes pH 5,5) aufgeschwemmt. Cystein wurde zur Verhinderung von Oxydationsprozessen, die starke, braune Verfärbungen des Extraktes bewirken, zugegeben. Die Suspensionen wurden durch Zentrifugation von allen festen Bestandteilen befreit und anschließend in der Ultrazentrifuge (1 Stunde bei 90 000 G) vollends geklärt. Die Niederschläge der Ultrazentrifugation wurden in Phosphat-Puffer (pH 7) suspendiert; die geklärten flüssigen Phasen (Extrakte) wurden mit Cystein-Phosphat-Puffer verdünnt und direkt in einem Beckmann-DU-Spektrophotometer untersucht.

Die Niederschläge kranker und gesunder Pflanzen zeigten keinerlei Unterschiede; es traten auch keine Absorptionsmaxima auf, die auf Virus- oder normale Nucleinsäuren schließen lassen. Dagegen ergaben die Extrakte sowohl kranker wie gesunder Blätter Absorptionskurven mit deutlichen Maxima bei 2680 Å; bei kranken Blättern trat ferner noch ein undeutliches Maximum bei 3200 Å auf, während die Kurven von gesunden Blättern von 2700 Å konstant abfielen oder an dieser Stelle nur undeutlich abflachten. Die in Tabelle 1 zusammengestellten Resultate sind Durchschnittswerte von je sechs Proben. Die Absorptionswerte der Blätter kranker Bäume sind prozentual auf die gesunden Kontrollpflanzen (100 %) bezogen.

Bei den Kirschen ließen sich keine Unterschiede zwischen gesunden und kranken Blättern nachweisen.

Die Pfirsichblätter von erkrankten Ästen zeigten bei allen drei Krankheiten stärkere Absorption bei beiden Maxima. Die Blätter von symptomlosen Ästen erkrankter Bäume lieferten durchweg Extrakte, die bei 2680 Å stärker absorbierten als die Kontrollen. Das zweite Maximum trat nur bei Yellow Leaf Roll auf, während Western X und Yellow Bud Mosaic in dieser Beziehung sich von den Kontrollen nicht unterschieden.

Tabelle 1

Prozentuale Absorptionswerte von Extrakten aus Blättern erkrankter Bäume

a) Blätter von erkrankten Ästen, b) Blätter von symptomlosen Ästen erkrankter Bäume, c) Blätter von gesunden Bäumen derselben Sorten als Kontrollen (100 %)

		1. Maximum 2680 Å	2. Maximum 3200 Å
Pfirsich			
Western X	a)	135 ± 9	206 ± 15
Western X	b)	128 ± 7	109 ± 12
Kontrolle	c)	100 ± 7	100 ± 8
Yellow Bud Mosaic	a)	141 ± 10	150 ± 5
Yellow Bud Mosaic	b)	150 ± 11	96 ± 6
Kontrolle	c)	100 ± 6	100 ± 8
Yellow Leaf Roll	a)	123 ± 6	147 ± 8
Yellow Leaf Roll	b)	126 ± 4	122 ± 3
Kontrolle	c)	100 ± 3	100 ± 3
Kirsche			
Buckskin Napa Strain	a)	87 ± 9	91 ± 8
Buckskin Napa Strain	b)	104 ± 5	111 ± 6
Kontrolle	c)	100 ± 4	100 ± 3
Buckskin Green Valley Strain	a)	107 ± 7	95 ± 8
Buckskin Green Valley Strain	b)	101 ± 5	104 ± 4
Kontrolle	c)	100 ± 5	100 ± 7

Die vorliegenden Resultate sind schwer zu interpretieren, weil die Kontrollbäume sehr wahrscheinlich nicht virusfrei waren, sondern vermutlich latente Komponenten des Ring Spot-Komplexes trugen. Indiziertes (virusfreies) Material war nicht erhältlich. Der einzige typische Unterschied zwischen Extrakten kranker und gesunder Blätter ist das zweite Maximum bei 3200 Å. Dieses tritt jedoch bei symptomlosen Ästen nicht mehr auf, ausgenommen bei Yellow Leaf Roll. Aus diesem Grund dürfte sich die eingeschlagene Methode für diagnostische Zwecke nicht eignen.

Zusammenfassung

An Hand amerikanischer Literaturquellen sind die wichtigsten Krankheitssymptome, die durch verschiedene Virosen an Steinobstarten bewirkt werden, zusammengestellt. Besonders berücksichtigt wurden solche Blatt-, Blüten-, Zweig- und Fruchtsymptome, die für die Krankheitsdiagnose wertvoll sind.

Neben einer genauen Symptomkenntnis spielen hauptsächlich Pfropfversuche für die Krankheitsdiagnose eine wichtige Rolle. Sie gestatten, die Virosen von verschiedenen genetischen Abnormitäten und umweltsbedingten Schädigungen (z. B. Mangelkrankheiten) zu unterscheiden. Ebenfalls auf Pfropfung beruht ein amerikanisches Verfahren, das als „indexing" bezeichnet wird und zur Eindämmung bestimmter Virosen schon gute Dienste geleistet hat.

Ferner werden in den Vereinigten Staaten Anstrengungen unternommen, durch chemische und physikalische Nachweismethoden einen Virusbefall zu diagnostizieren. Einigermaßen zuverlässige Resultate lieferten Farbreaktionen, die mehr oder weniger spezifische Reaktionsprodukte des Wirtes auf Virusbefall erfassen. Weniger eindeutig sind U-V-Absorptionsmessungen von Blattextrakten kranker Bäume, die das Virusnukleoprotein direkt nachweisen sollten. Die eigenen Versuche des Verfassers ergaben ebenfalls Resultate, die sich für diagnostische Zwecke nicht eignen.

Summary

The most important symptoms caused by different viruses on stone fruits are briefly discussed. Specially those are considered that are caracteristic for the diseases in question and serve well for their diagnosis. The material preented has been gathered in North American publications.

Results obtained by grafting techniques, with special emphasis on the „indexing" method are mentioned.

Other approaches to the diagnosis of stone fruit viruses are the color tests by Lindner et al. (1951) and the ultraviolet absorption measurements by the same authors (1952). The author's own results by this latter method were not promising.

The author wishes to express his best thanks to Dr. M. W. Gardner, Dr. T. E. Rawlins and their co-workers of the Dept. of Plant Pathology, University ofCalifornia, Berkely, Calif., for their kind help.

Literaturverzeichnis

Berkeley, G. H.: Yellows and Necrotic Ring Spot of sour cherry in Ontario. Phytopath. **37**, 2—3, 1948.

Blodgett, E. C.: Peach Wart. Phytopath. **33**, 21—32, 1943 a.

— —: Prune diseases. Wash. State Hort. Assoc. Proc. **39**, 59—64, 1943 b.

— —: Peach Calico. Phytopath. **34**, 650—657, 1944.

— —: Sparse Leaf of Italian prune. Phytopath. **37**, 360, 1947.

BLODGETT, E. C., DIENER, T. O., WILLIAMS, H. E. und BARRAT, J. G.: Stone fruit disease project. in Report of the technical committee of the western region stone fruit virus project W-22 (vervielfältigt), 1952.

BLUMER, S. und MEYER, A.: Das Kirschbaumsterben im Baselland. Schweiz. Zeitschr. f. Obst- und Weinbau **56**, 203—208, 1947.

— — und GEERING, J.: Das Kirschbaumsterben im Baselland (Pfeffingerkrankheit). Phytopath. Zeitschr. **16**, 300—335, 1950.

BODINE, E. W.: Host range of Peach Mosaic in Western Colorado. Phytopath. **31**, 322—333, 1941.

— — und NEWTON, J. H.: The Rasp Leaf of cherry. Phytopath. **32**, 333—335, 1942.

CATION, D.: The Rosette Mosaic disease of peach. Mich. Agr. Expt. Sta. Techn. Bul. **180**, 24 pp, 1942.

— — und BENNET, C. W.: Red Suture in Virus diseases and other disorders with virus-like symptoms of stone fruits in North America. U. S. Dept. Agr. Agr. Handbook **10**, 11—13, 1951.

COCHRAN, G. W.: Laboratory studies of Western-X virus preparations. Phytopath. **41**, 936, 1951.

COCHRAN, L. C. und HUTCHINS, L. M.: A severe Ring Spot virosis on peach. Phytopath. **31**, 860, 1941.

Georgia Off. State Ent. Bul. **78**, 55 pp, 1934. Identification and control of the Phony disease of the peach.

HUTCHINS, L. M.: Peach Mosaic — a new virus disease. Science **76**, 123, 1932.

— —, KINMAN, C. F., COCHRAN, L. C. und STOUT, G. L.: Muir Peach Dwarf. in Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. Dept. Agr. Agr. Handbook **10**, 63—70, 1951.

JENSEN, D. D.: Breaking of *Cattleya* orchid flowers by orchid mosaic virus and its transmission by aphids. Phytopath. **39**, 1056—1059, 1949.

LAVIN, G. und STANLEY, W. M.: The ultraviolet absorption spectrum of crystalline tobacco mosaic virus protein. Jour. Biol. Chem. **118**, 269—274, 1937.

LINDNER, R. C.: A rapid chemical test for some plant virus diseases. Science **107**, 17—19, 1948.

— —, KIRKPATRICK, H. C. und WEEKS, T. F.: Ultraviolet absorption spectra as a tool for diagnosing plant virus diseases. Science **115**, 496—499, 1952.

— —, WEEKS, T. F. und KIRKPATRICK, H. C.: Studies on a color test for stone fruit virus diseases. Phytopath. **41**, 897—902, 1951.

LOTT, T. B.: „Lambert Mottle", a transmissable virus disease of sweet cherry. Sci. Agr. **23**, 439—441, 1945.

— —: „Small Bitter Cherry", a fruit abnormality of the Bing variety. Sci. Agr. **27**, 260—262, 1947.

MCCLINTOCK, J. A., KUNKEL, L. O. und THORNBERRY, H. H.: Peach Rosette. in Virus disease and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. Dept. Agr. Agr. Handbook **10**, 7—10, 1951.

Milbrath, J. A.: Selecting stone fruit trees free from virus diseases. Ore. State Agric. Exp. Sta. Bul. **522**, 27 pp, 1952.

— — und Zeller, S. M.: Rough Bark, a virus disease of flowering cherry. Phytopath. **32**, 428—430, 1942.

— — und — —: Indexing fruit trees for viruses. Amer. Nurseryman **88**, 7—8, 1948.

Moore, J. D. und Keitt, G. W.: Host range studies of Necrotic Ring Spot and Yellows ouf sour cherry. Phytopath. **34**, 1009, 1944.

Rawlins, T. E. und Parker, K. G.: Influence of root stocks on the susceptibility of sweet cherry to the Buckskin disease. Phytopath. **24**, 1029—1031, 1934.

— — und Thomas, H. E.: The Buckskin disease of cherry and other stone fruits. Phytopath. **31**, 916—925, 1941.

Reeves, E. L.: Virus diseases of fruit trees in Washington. Wash. State Dept. Agr. Bul. **1**, 25 pp, 1943.

— —, Blodgett, E. C. und Fischer, G. W.: The problem of Little Cherry disease in Washington. Wash. State Hort. Assoc. Proc. **42**, 115—118, 1946.

— — und Richards, B. L.: A Rusty Mottle like virus disease of sweet cherry in Utah. Phytopath. **36**, 409, 1946.

Schlocker, A. und Nyland, G.: Yellow Leaf Roll of peach. Calif. State Dept. Agr. Bul. **40**, 39—42, 1951.

Smith, C. O. und Cochran, L. C.: A noninfectious heritable leaf-spot and shot-hole disease of the Beaty plum. Phytopath. **33**, 1101—1103, 1943.

Smith, E. F.: Peach Yellows: A preliminary report. U. S. Dept. Agric. Bot. Div. Bul. **9**, 254 pp, 1888.

— —: The Peach Rosette. Jour. Mycol. **6**, 143—148, 1891.

Smith, R. E.: The Diamond Canker disease of the French prune. Calif. Agr. Col. Ext. Cir. **67**, 22 pp, 1932.

Stoddard, E. M.: The X-disease of peach. Conn. State Agr. Expt. Sta. Cir. **122**, 55—60, 1938.

Stout, G. L. und Wilson, E. E.: Studies of a bud failure condition in almond trees. Phytopath. **37**, 364, 1947.

Takahashi, W. N.: Ultraviolet absorption as a measure of tobacco mosaic virus nucleoprotein. Phytopath. **41**, 142—145, 1951 a.

— —: A ground glass homogenizer for preparing virus samples from plant tissue. Phytopath. **41**, 481—482, 1951 b.

Thomas, H. E.: Willow Twig of peach and nectarine. Calif. Fruit and Grape Grower **3**, 11, 1949.

— — und Rawlins, T. E.: Some mosaic diseases of Prunus species. Hilgardia **12**, 623—644, 1939.

— —, Scott, C. E., Wilson, E. E. und Freitag, J. H.: Dissemination of a peach mosaic. Phytopath. **34**, 658—661, 1944.

United States Department of Agriculture. Agric. Handbook 10. Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. Government Printing Office, Washington D. C., 1951.

Willison, R. S.: Peach Blotch. Phytopath. 36, 273—276, 1946.

— — und Berkeley, G. H.: Tatter Leaf of sweet cherry. Phytopath. 36, 73—84, 1946.

Wilson, E. E. und Stout, G. L.: Drake Almond Bud Failure. in Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. Dept. Agr. Agr. Handbook 10, 191—194, 1951.

Zeller, S. M., Milbrath, J. A. und Kienholz, J. R.: Black Canker of cherry. Phytopath. 37, 366, 1947.

Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Zweigstelle Baden, Rosenhof, Ladenburg

Ascochyta sojaecola auf Sojabohne in Deutschland

Von

N. O. Frandsen

Mit 8 Abbildungen

Einleitung

Da die Sojabohne erst in neuester Zeit außerhalb ihres uralten ostasiatischen Heimatgebietes in größerem Umfange angebaut worden ist, hat man Gelegenheit, zu beobachten, wie sich die ihr eigenen Krankheiten in den neuen Anbaugebieten allmählich einfinden, zum größten Teil offensichtlich durch Verschleppung mit dem Saatgut.

Im Mai 1951 bekamen wir von der Zweigstelle Scharnhorst, Niedersachsen, des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung, junge Sojabohnenpflanzen zugeschickt, die von einer neuen Pilzkrankheit befallen waren. Dieselbe Krankheit trat ab Juli 1951 recht verbreitet in dem Sojabohnen-Zuchtgarten des Max-Planck-Instituts, Voldagsen (Niedersachsen), auf, und im Herbst 1952 wurde dieselbe Krankheit an Sojabohnen auf der Zweigstelle Baden/Rosenhof des Instituts festgestellt, nachdem eine feuchte Witterung die trocken-heiße Wetterperiode im Sommer abgelöst hatte.

Zunächst wurde als Krankheitserreger der in Asien, Europa und Nordamerika verbreitete Pilz *Phyllosticta sojaecola* Massal vermutet, der auch früher in Deutschland von Böning (1938) festgestellt worden ist. Die Konidien waren jedoch typische *Ascochyta*-Konidien, und ihre Dimensionen waren außerdem größer als die für *Phyllosticta sojaecola* angegebenen Konidienmaße. Dagegen stimmte der Pilz völlig mit der Diagnose von *Ascochyta sojaecola* Abram. überein.

Verbreitung von *Ascochyta sojaecola*

Dieser Pilz wurde 1931 von Abramoff im östlichen Sibirien erstmalig gefunden, wo er im Amur-Gebiet und an der ostsibirischen Meeresküste in den Sojafeldern verbreitet war und in dichten Beständen recht viel Schaden

verursachte. Da ABRAMOFF in derselben Arbeit ebenfalls Befall von *Phyllosticta sojaecola* erwähnte, ist es ausgeschlossen, daß eine Verwechslung mit letztgenannter Art stattgefunden hat.

Ungefähr gleichzeitig wird aus Westsibirien (LOUKYANOVITSCH et al. 1931) über einen Befall von Sojabohnenhülsen durch eine nicht näher identifizierte *Ascochyta*-Art berichtet, die für diese Gegend ernstliche Beachtung verdienen sollte. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß es sich um dieselbe Art gehandelt hat. Der Sojabohnenanbau in der betreffenden Gegend war ganz neu aufgenommen worden.

Außer diesen beiden Angaben aus Ost- und Westsibirien liegt eine Mitteilung aus Zentralafrika vor, wo HENDRICKX (1939) den Pilz an Sojabohnen in Belgisch-Kongo gefunden hat.

Dagegen scheint der Pilz noch nicht die nordamerikanischen Sojabohnen-Anbaugebiete erreicht zu haben. Jedenfalls reiht HUNT (1946) dieselbe Art in sein Verzeichnis über zerstörende Pflanzenkrankheiten, die bisher noch nicht in Nordamerika festgestellt worden sind, ein.

Auch aus Europa haben wir bisher keine Angaben über *A. sojaecola* gefunden. In KORNFELDS Besprechung (1935) von europäischen Sojabohnenkrankheiten wird sie nicht erwähnt. Einer unklaren Mitteilung des ostdeutschen Pflanzenschutz-Meldedienstes zufolge (ANONYMUS 1952) hat im Jahre 1951 „Brennfleckenkrankheit (*Colletotrichum lindemuthianum* und *Ascochyta sp.*) an Erbsen und Sojabohnen" in der Mark Brandenburg erhebliche Verluste verursacht und in einem Fall 100 % Ernteausfall bei Sojabohnen bewirkt.

Die Angabe von *Colletotrichum lindemuthianum* beruht sicher auf Verwechslung mit einer anderen Art, wahrscheinlich eher mit einer der auf Sojabohnen parasitierenden *Colletotrichum*-Arten, da dieser Befall schon vorher aus Europa bekannt ist (KORNFELD 1935), als auf Verwechslung mit dem recht seltenen *Colletotrichum pisi* Pat. auf Erbse. Ob sich die Angabe von *Ascochyta* auf Sojabohne oder auf Erbse bezieht, geht aus dem Text nicht hervor. Die letztere Vermutung ist wohl in Anbetracht des häufigen Vorkommens von *Ascochyta*-Brennfleckenkrankheiten an der Erbse in Deutschland am wahrscheinlichsten.

Da uns außer den Angaben aus Sibirien und Zentralafrika keine Funde von *Ascochyta sojaecola* bekannt sind, vermuten wir, daß der Pilz für Europa neu ist.

Symptome

Alle oberirdischen Teile der Sojabohne, Keimblätter, Stengel, Laubblätter sowie Hülsen werden befallen. An den Kotyledonen entstehen mehrere Millimeter große, schwarzbraune, kreisförmige Flecke (Abb. 8), die zum Eingehen der Keimlinge führen können, falls die Fäule Gelegenheit findet, sich abwärts zu verbreiten.

An den Laubblättern entstehen an jedem Fiederblättchen oft mehrere, mehr oder weniger kreisförmige, hell- bis mittelbraune, meist 10 bis 15 mm

Abb. 1 (links). Fiederblättchen von Sojabohne mit gezonten Blattflecken von *Ascochyta sojaecola*

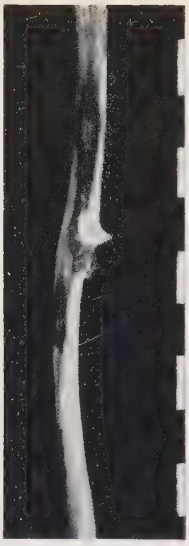


Abb. 2 (rechts). Stengelflecke von *Ascochyta sojaecola* an Sojabohne

breite Flecke, die deutlich gezont und recht scharf abgegrenzt sind. Die Mitte der Flecken ist hellbraun und oft rissig und trägt an der Blattoberseite zerstreut dunkle Pünktchen von den Pykniden. Die Flecke entstehen sowohl mitten auf der Blattspreite als vom Blattrand her ausgehend (Abb. 1).

Am Stengel bilden sich in der Längsrichtung ein bis mehrere cm lange, 3 bis 4 mm breite flachelliptische Flecke. Ein breiter violetter bis purpurbrauner Außenrand umgibt die hellbraune, trockene, etwas rissige Mitte (Abb. 2).

Die Symptome an den Hülsen variieren etwas, je nach dem Stadium, in welchem die Hülsen befallen werden. An jungen Hülsen sind die Flecken dunkelbraun, 1/2 bis 1 cm groß, etwas diffus, mit hellerer Mitte (Abb. 3 rechts). An heranreifenden Hülsen sind die Flecke hell braungrau mit einem sehr charakteristischen Ringzonenmuster, das von den schwarzen Pünktchen der zahlreichen Pykniden gebildet wird (Abb. 3 links). Die Samenanlagen werden bei frühem Hülsenbefall nicht entwickelt, sondern schrumpfen ein. Bei späterem Hülsenbefall sieht man unter der fleckigen Hülsenwand braune Flecke an den voll entwickelten Bohnen. Der Umstand, daß der Hülsenbefall sehr oft vom Stengelende ausgeht, läßt vermuten, daß die Konidien häufig bei Regenwetter mit dem an dem Stengel entlanglaufenden Wasser zu den dicht an der Hauptachse sitzenden Hülsen geschwemmt werden.

Abb. 3. Hülsenflecke von *Ascochyta sojaecola* an Sojabohne
Links: reifende Hülsen; rechts: junge Hülsen

Die Morphologie des Pilzes auf natürlichem und künstlichem Substrat

Sowohl an den Stengel-, Blatt- als Hülsenflecken werden zahlreiche dunkelbraune, kugelförmige Pykniden gebildet. Ihr Durchmesser schwankt zwischen 90 und 200 μ, am häufigsten 125 bis 140 μ. Die Pykniden werden an den Hülsen durchschnittlich etwas größer (139 μ) als an den Blättern (126 μ). Das von einem dunkelbraunen Gewebering umgebene Ostiolum ist kreisrund und durchschnittlich 18 bis 20 μ weit (Abb. 4). Die an den Blattflecken gebildeten Pykniden münden an der Blattoberseite ohne nähere Beziehung zu den Spaltöffnungen.

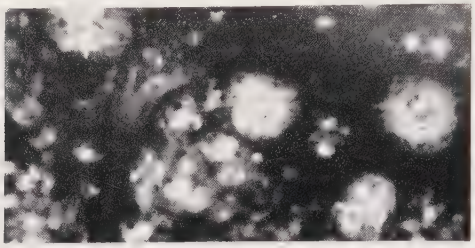
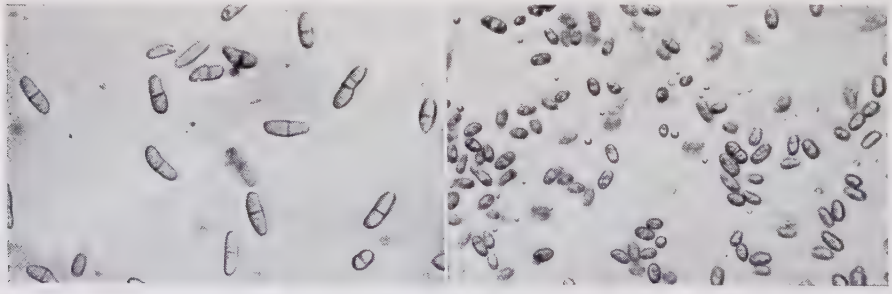


Abb. 4. Pykniden von *Ascochyta sojaecola* an Sojabohnenblättchen. Vergr. etwa 80×

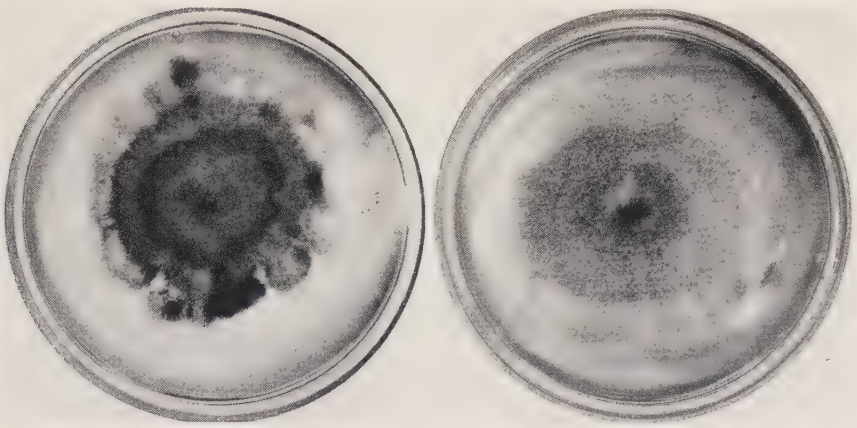
Die Konidien, die in Masse schmutzig rosa gefärbt sind, quellen bei Befeuchtung in dicken Serpentinen hervor. Sie sind hyalin, länglich oval, oft etwas schief gebogen und am häufigsten mit einem medianen bis submedianen Septum versehen.

2-septierte Konidien sind nicht selten, auch 3-septierte werden gefunden (Abb. 5 a). Entsprechend der unterschiedlichen Pyknidengröße an Blatt- und Hülsenflecken sind auch die Durchschnittsmaße der Konidien von Blättern und Hülsen etwas verschieden: Konidien von Blättern 6,6 bis 9,9 × 3,9 bis 4,4 μ, durchschnittlich 8,0 × 4,3 μ, und Konidien von Hülsen 8,0 bis 13,8 × 4,0 bis 5,3 μ, durchschnittlich 11,8 × 5,0 μ. ABRAMOFF gibt in seiner Diagnose die Maße der Konidien mit 8 bis 11 × 3 bis 5 μ an und die der Pykniden mit 30 bis 220 μ.



a Abb. 5. Konidien von *Ascochyta sojaecola* (Vergr. etwa 450×) b
a) von Sojabohnenhülsen
b) von 14 Tage alter Kultur auf KDA

Der Pilz wächst ausgezeichnet auf Kartoffel-Dextrose-Agar (KDA). Verschiedene Einsporlinien zeigen ein unterschiedliches Kulturbild (Abb. 6). Die Kulturen waren jedoch deutlich verschieden von drei anderen *Ascochyta*-Arten aus Leguminosen, *A. pisi* Lib. aus Erbse, *A. fabae* Speg. aus Acker-



a Abb. 6. Verschiedene Morphotypen von *Ascochyta sojaecola*. b
14 Tage alte Kulturen auf KDA:
a) Isolat Voldagsen, b) Isolat Rosenhof

bohne und *A. boltshauseri* aus Gartenbohne, die zum Vergleich mit *A. sojaecola* ebenfalls im Juli 1951 in Voldagsen isoliert wurden. In dem dunklen stromatischen Mycel werden zahlreiche Pykniden von normaler Form und Größe gebildet, die jedoch etwas dunkelbrauner und ohne ausgebildetes Ostiolum sind.

Die auf KDA gebildeten Konidien (Abb. 5 b) weichen wesentlich von den an der Pflanze erzeugten Konidien ab. Sie sind fast durchweg unseptiert, nur vereinzelt 1-septiert, 4,8 bis 7,4 × 2,7 bis 3,7 μ groß, durchschnittlich 6,1 × 2,9 μ. Daß die auf Agarnährböden gebildeten Konidien wesentlich von den an der Wirtspflanze gebildeten Konidien abweichen, ist auch von anderen *Ascochyta*-Arten bekannt. Bei *A. boltshauseri* z. B. fanden wir, wie ebenfalls Sprague (1935) gefunden hat, daß die auf KDA erzeugten Konidien wesentlich kleiner als die auf der Gartenbohne gebildeten waren und zudem fast alle unseptiert.

Infektionsversuche

Infektionsversuche mit einer Reinkultur im Gewächshaus ergaben auf jungen Sojabohnenpflanzen positiven Erfolg (Abb. 7). Auch auf der Gartenbohne ergaben die Infektionsversuche kleine Flecke am Stengel, Blattstiel und Blatt (Strichel und Interkostalflecke). In den Flecken wurden die für den Pilz charakteristischen Pykniden und Konidien gefunden, und der Pilz wurde reisoliert. Auf der Wildart *Glycine ussuriensis* Regel u. Maack wurden ebenfalls kleine fruktifizierende Flecken erzielt.

Bondartzeva-Monteverde und Vassilievsky (1940), die eine Anzahl russischer *Ascochyta*-Arten von Leguminosen verglichen haben, vermuten auch, daß *A. sojaecola* zu den Arten zählt, die nicht streng an eine Wirtsart

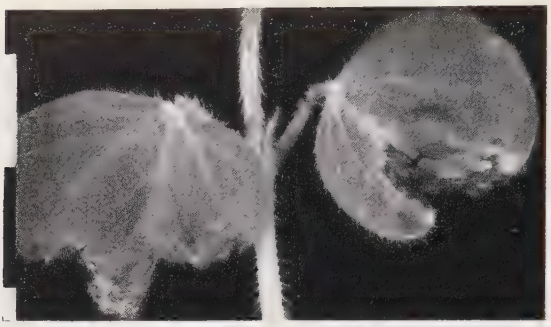


Abb. 7. Künstliche Infektion einer jungen Sojabohnenpflanze mit *Ascochyta sojaecola*

gebunden sind. Es ist auch von anderer Seite für verschiedene auf Leguminosen parasitierende *Ascochyta*-Arten gefunden worden, daß eine Art in der Natur wesentlich nur auf einer einzigen Wirtsart vorkommt, obwohl sie auch in Infektionsversuchen imstande ist, einzelne andere Wirtsarten zu befallen (z. B. SPRAGUE 1929, RATHSCHLAG 1930).

Bedeutung

Obwohl die Krankheit im Beobachtungsjahr 1951 an Bedeutung hinter der Fettfleckenkrankheit, *Pseudomonas glycinea* (Coerper) Stapp und der Virose (*Marmor sojae*) zurückstand, verdient sie eine gewisse Beachtung in Anbaugebieten mit reichlichem Niederschlag. Sowohl die Überwinterung des Pilzes als auch seine Verbreitung über große Abstände werden effektiv durch die Samenübertragung gewährleistet (Abb. 8). Das Auftreten an sämtlichen drei deutschen Fundorten, alle zum gleichen Institut gehörig, läßt sich durch Austausch von Sojabohnensaatgut erklären. Eine Bekämpfung der Krankheit muß in erster Linie gegen die Samenübertragung gerichtet werden.

Abb. 8. Durch Samenübertragung von *Ascochyta sojaecola* erkrankter Sojabohnenkeimling

Wir haben keine näheren Beobachtungen über Resistenzunterschiede der Sojabohnensorten gemacht. ABRAMOFF gibt jedoch an, daß der Befall auf schwarz- und braunsamigen Sorten im Gegensatz zu dem auf grünsamigen Sorten wesentlich stärker ist. Unter den gelbsamigen Sorten sind die purpurblühenden nicht selten stärker befallen als die weißblühenden Sorten.

Zusammenfassung

Es wird aus Niedersachsen und Baden eine anscheinend für Europa nicht bekannte Sojabohnenkrankheit, verursacht durch *Ascochyta sojaecola* Abram., beschrieben.

Sowohl Keimlinge als auch Laub, Stengel und Hülsen erwachsener Pflanzen werden befallen. Samenübertragung findet statt. Der Pilz bildet auf

künstlichem Nährboden kleinere (durchschnittlich 6,1 × 2,9 μ), hauptsächlich unseptierte Konidien; auf dem Wirt größere, hauptsächlich 1-septierte Konidien (auf Blattflecken durchschnittlich 8,0 × 4,3 μ und auf Hülsen durchschnittlich 11,8 × 5,0 μ).

Infektionsversuche mit Einsporlinien des Pilzes auf *Glycine soja*, *G. ussuriensis* und *Phaseolus vulgaris* ergaben positiven Erfolg, und der Pilz wurde aus den Flecken reisoliert.

Summary

A description is given of a soybean disease found at localities in Lower Saxony and Baden in 1951 and 1952, the cause of which, *Ascochyta sojaecola* Abram., seemingly has not previously been recorded from Europe.

Seedlings as well as foliage, stems and pods of mature plants are attacked. The disease is seed-transmitted.

In culture the fungus produces smaller (6,1 by 2,9 μ), mainly continuous pycnidiospores, on the host, however, it produces larger, mainly one-septated pycnidiospores (on foliage: 8,0 by 4,3 μ, on pods: 11,8 by 5,0 μ on an average).

In artificial inoculation experiments with monosporic isolates *Glycine soja* (L.) Sieb. & Zucc., *G. ussuriensis* Regel u. Maack and *Phaseolus vulgaris* L. were infected and the fungus was reisolated from the leaf spots.

Literaturverzeichnis

* Abramoff, I. N.: Gribnye bolezni soevych bobov na Dalnem Vostoke. Bolezni i brediteli soevych bobov na Dalnem Vostoke, 120 pp., Vladivostok, 1931. Rev. Appl. Mycol. **11**, 87—89, 1932.

Anonymus: Auftreten der wichtigsten Krankheiten und Schädlinge im Bereich der DDR im Mai und Juni 1951. Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst (Berlin) **5**, 176—179, 1951.

* Böning, K.: Phyllosticta-Fleckenkrankheit der Sojabohne. Prakt. Bl. Pfl.bau Pfl.schutz **16**, 168—172, 1938. Rev. Appl. Mycol. **18**, 292—293, 1939.

* Bondartzeva-Monteverde, V. N. und Vassilievsky, N. I.: K biologij i morfologij nekogorych vidov *Ascochyta* na bobovych. Acta Inst. Bot. Acad. Sci. URSS 1938, Ser. II, 345—376, 1940. Rev. Appl. Mycol. **20**, 232—234, 1941.

* Hendrickx, F. L.: Observations phytopathologiques à la station de Mulungu en 1938. Publ. Inst. Nat. Étude Agron. Congo Belge, 117—128, 1939. Rev. Appl. Mycol. **19**, 329—330, 1940.

Hunt, N. R.: Destructive plant diseases not yet established in North America. Bot. Rev. **12**, 593—627, 1946.

Kornfeld, A.: Schädigungen und Krankheiten der Ölbohne (Soja), soweit sie bisher in Europa bekannt geworden sind. Z. Pfl.krankh. Pfl.schutz **45**, 577—613, 1935.

* Loukyanovitsch, F. K., Lebedeva, L. A., Kizeritzky, V. A., Ermalayeva, O. I. und Obolinsky, S. I.: Vrediteli i bolezni selsko-chozjaistvennych rastenij v rajone Turkestano-sibirskoj zeleznoj dorogi. Plant Protection Leningrad **7**, 349—360, 1931. Rev. Appl. Mycol. **11**, 315—316, 1932.

Rathschlag, H.: Zur Spezialisierung der auf *Vicia faba* parasitierenden *Ascochyta*. Phytopath. Zeitschr. **2**, 493—501, 1930.

Sprague, R.: Host range and life-history studies of some leguminous *Ascochytae*. Phytopath. **19**, 917—932, 1929.

— —: *Ascochyta boltshauseri* on beans in Oregon. Phytopath. **25**, 416—420, 1935.

Die mit einem * versehenen Arbeiten waren nur im Referat zugänglich.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Direktor: Prof. E. Gäumann

Über mutmaßlich induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L.

Von

G. Bazzigher

Mit 14 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung und Problemstellung. — B. Vorbereitende Versuche: 1. Infektionsmethode; 2. Das Versuchsmaterial; 3. Die Wachstumsbedingungen der Bohnen bei verschiedenen Temperaturen; 4. Die Wachstumsbedingungen von *Botrytis cinerea Pers.* in vitro bei verschiedenen Temperaturen; 5. Die Wachstumsbedingungen von *Botrytis cinerea Pers.* in vivo bei verschiedenen Temperaturen; 6. Der Einfluß der Brandnekrose auf das Gelingen der Infektion und auf das Ausmaß der Erkrankung; 7. Einfluß der Nährsalzkonzentration auf die Anfälligkeit von *Phaseolus vulgaris* L.; 8. Zusammenfassung und Schlußfolgerung aus den orientierenden Versuchen. — C. Versuche über induzierte Abwehrreaktionen: 1. Versuche über Prämunität; 2. Sensibilisierung des Wirtes durch Filtrate von Nährlösungen; 3. Präformierte fungi- und bakteriostatische Stoffe in Bohnenpflanzen; 4. Der Nachweis von Toxinen in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea Pers.* — D. Zusammenfassung. — E. Literaturverzeichnis.

A. Einleitung und Problemstellung

Die vorliegende Arbeit möchte über induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L. gegenüber *Botrytis cinerea* Pers. berichten. Jarach (1932) ließ Bohnen auf Kulturfiltrat von *Botrytis cinerea* Pers. keimen und stellte eine Verminderung ihrer Anfälligkeit fest. Arnaudi, C. (1933), und Carbone, D., ed Kalajev, A. (1933), ferner Carbone, D. (1934), und Arata, M. (1935), führten entsprechende Versuche mit den gleichen Objekten durch und erhielten ebenfalls positive Ergebnisse. Ohne näher auf diese Arbeiten einzugehen, sei hier jedoch festgehalten, daß die verwendeten Methoden verschiedene Mängel aufweisen, so daß die Ergebnisse noch weiterhin bestätigt werden müssen.

B. Vorbereitende Versuche

Botrytis cinerea ist das klassische Beispiel eines Parasiten, der die intakte Körperhaut der Wirtspflanze zu durchdringen vermag. Der Infektionsweg ist weder an natürliche Körperöffnungen noch an das Vorhandensein von

Wunden gebunden. Es ist verschiedentlich nachgewiesen worden, daß *Botrytis cinerea* mit relativ starken Kräften den Kutikulapanzer durchbricht und so in das Innere des Wirtes eindringt. Die Befallshäufigkeit nimmt mit zunehmender Dicke der Kutikula ab, mit anderen Worten: die Infektionsanfälligkeit ist unter anderem von der Dicke der Kutikula abhängig. Bei meinen Versuchen konnte dieser natürliche Infektionsmechanismus nicht berücksichtigt werden, da der Infektionserfolg zu gering und die Streuungen zu groß sind. Da anzunehmen ist, daß induzierte Abwehrreaktionen besonders bei Beurteilung der Krankheitsanfälligkeit erfaßt werden, mußte für solche Versuche mit einer 100 %igen Befallshäufigkeit gerechnet werden können. Dies wurde möglich durch Anbringen einer kleinen Brandverletzung an der zu infizierenden Stelle des Wirtsgewebes. Diese Methode gibt auch Gewähr für eine beschränkte Gleichzeitigkeit des Infektionsvorganges bei allen Versuchspflanzen. Bei Nichtgleichzeitigkeit haben wir starke Streuungen in der Beurteilung der Erkrankungsgröße; Streuungen, die rein zeitlich bedingt sind.

1. Die Infektionsmethode

Die zu infizierenden Bohnenpflanzen wurden an der gewünschten Stelle des Stengels (Hypocotyl) mit einer glühenden Nadel verletzt. Die so entstandene Brandnekrose umfaßte ungefähr $^1/_4$ mm² an direkt zerstörter Oberfläche. Diese Stelle wurde sodann mit Mycel von *Botrytis cinerea* Pers. beimpft und die Pflanze in den Inkubationsraum gestellt. Nach zwei, drei oder vier Tagen (je nach Versuch) wurde die Pflanze kontrolliert. Die Länge der entstandenen Läsion diente als Maß für die Erkrankung.

Das Infektionsmaterial an *Botrytis cinerea* wurde auf Fries II-Nährlösung in Schüttelkultur bei 24 ° C gewonnen. Die für diesen Zweck verwendete Schüttelmaschine hatte eine Frequenz von 90 Schwingungen pro Minute. 400-cc-Erlenmeyerkolben mit 100 cc Nährlösung (Fries II) wurden autoklaviert, hernach mit einer Konidiensuspension von *Botrytis cinerea* beimpft und auf die erwähnte Schüttelmaschine gestellt. Nach sechs Tagen konnten die Kulturen für die Versuche verwendet werden. Das Alter ist für das Gelingen der Infektion wesentlich; die Kultur darf nicht älter als sechs Tage sein.

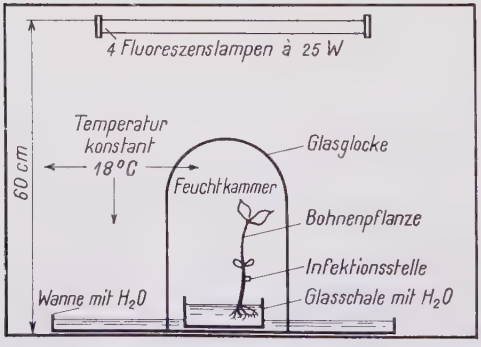


Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchseinrichtungen für Infektion und Inkubation (Inkubationsraum)

Für die Inkubation dienten Glasglocken, die mit ihrem Sockel in Wasser standen. Der Innenraum wurde auf diese Weise zu einer außerordentlich günstigen Feuchtkammer für die infizierten Pflanzen, die in einer Glasschale mit Wasser hineingestellt wurden. Innerhalb und außerhalb dieser Glasglocken wurde die Temperatur konstant auf 18 ° C gehalten

(Inkubationstemperatur). Für konstante Belichtung sorgten vier Fluoreszenzlampen zu 25 Watt.

2. Das Versuchsmaterial

In allen Versuchen wurde mit *Phaseolus vulgaris* L. Buschbohnensorte Wädenswil gearbeitet, einer hochgezüchteten Sorte mit großer genetischer Ausgeglichenheit.

Von verschiedenen Stämmen von *Botrytis cinerea* Pers., die ich ebenfalls aus der Eidgenössischen Versuchsanstalt in Wädenswil bezog, wählte ich den Stamm Nr. 38.

Zur Klärung der zu verwendenden Methode mußten vorerst verschiedene orientierende Versuche durchgeführt werden. Diese Versuche und ihre Ergebnisse werden hier in der Folge kurz gezeigt:

Abb. 2. Mikrophotographie: Durchwucherung der Gewebe von *Phaseolus vulgaris* L. mit Hyphen von *Botrytis cinerea Pers.* Längsschnitt durch eine Läsion am Stengel der Bohnenpflanze

3. Die Wachstumsbedingungen der Bohnen bei verschiedenen Temperaturen

Versuchsfrage a): Welches sind die günstigsten Temperaturen für das Keimen der Bohnen?

Versuchsanordnung: Buschbohnen wurden äußerlich mit 1 ‰ Sublimat (während 15 Minuten) desinfiziert und nach gründlichem Wässern während zwölf Stunden in Wasser gequollen. Das Saatgut wurde hernach in Glasschalen mit feuchtem, sterilem Quarzsand zu den verschiedenen Temperaturen (in Thermostaten von 9 ° bis 37 ° C) gebracht und 24 Stunden lang bebrütet. Nach dieser Zeit wurde der Prozentsatz der gekeimten Pflanzen ermittelt.

Versuchsergebnis: In Abb. 3 sind die Ergebnisse dieses Versuches dargestellt.

Versuchsfrage b): Welches sind die günstigsten Temperaturen für das Streckungswachstum der Bohnen?

Versuchsanordnung: Buschbohnen wurden äußerlich mit 1 ‰ Sublimat (15 Minuten) desinfiziert und nach gründlichem Wässern zwölf Stunden in Wasser gequollen. Hernach wurden die Bohnen in Reagenzgläser auf Knop-A-Z-Agar unter möglichst sterilen Bedingungen zum Keimen ge-

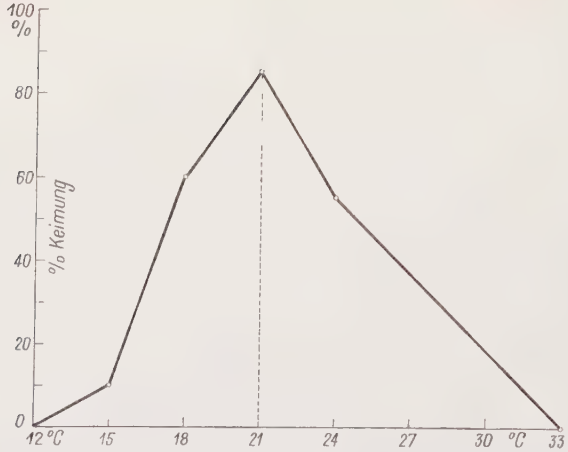


Abb. 3. Der Einfluß der Temperatur auf die Keimungsgeschwindigkeit von *Phaseolus vulgaris* L.

bracht. Gleich große und gleich starke Keimlinge wurden ausgewählt und für den Versuch verwendet. Je fünf Reagenzgläser mit diesen Keimlingen kamen in Thermostaten von 9 ° bis 37 ° C. Nach zwei Tagen wurde das Längenwachstum kontrolliert.

Versuchsergebnis: Die Durchschnittswerte wurden ermittelt. Das Ergebnis ist in Abb. 4 ersichtlich.

4. Die Wachstumsbedingungen von *Botrytis cinerea* Pers. in vitro bei verschiedenen Temperaturen

Versuchsfrage: Welches sind die günstigsten Temperaturen für das Wachstum von *Botrytis cinerea* Pers. in vitro (auf Malzagar)?

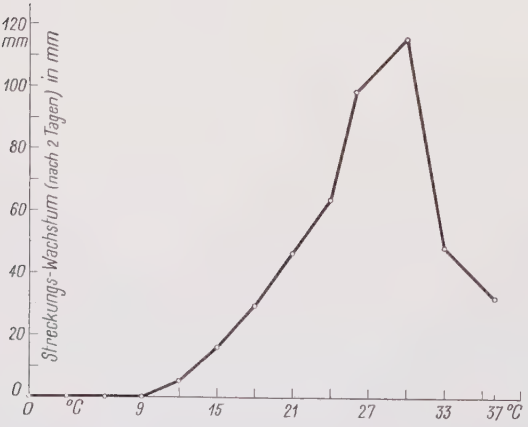


Abb. 4. Der Einfluß der Temperatur auf das Streckungswachstum von *Phaseolus vulgaris* L.

Versuchsanordnung: Petrischalen mit 17,5 cc Malzagar (2 % Malzextrakt Wander, 1,5 % Agar in Brunnenwasser) wurden in der Mitte mit einem Mycelstück von *Botrytis cinerea* Pers. beimpft und einen Tag bei 24 ° C belassen, damit der Pilz gut anwuchs. Hernach wurden sie auf die verschiedenen Thermostaten verteilt, so daß jede Temperaturstufe fünf Petrischalen erhielt. Nach fünf Tagen wurden die Koloniedurchmesser ausgemessen und die Durchschnittswerte ermittelt.

Versuchsergebnis: Die Temperaturansprüche von *Botrytis cinerea* sind charakterisiert durch ein Temperatur-Minimum bei 0 ° C, ein -Optimum bei 18 bis 24 ° C und ein -Maximum bei 33 ° C, wie dies Abb. 5 zeigt.

5. Die Wachstumsbedingungen von *Botrytis cinerea* Pers. in vivo bei verschiedenen Temperaturen

Versuchsfrage: Welches sind die günstigsten Temperaturen für die Proliferation des Erregers im Wirtsgewebe (*Botrytis cinerea* / *Phaseolus vulgaris* L.)?

Zehn Tage alte Buschbohnen, welche in Töpfen mit Quarzsand und Knop-A-Z-Lösung wuchsen, wurden mit einer glühenden Nadel am Stengel verletzt und mit Mycel einer vier Tage alten *Botrytis*-Kultur infiziert. Die so behandelten Pflanzen wurden verschiedenen Temperaturen ausgesetzt und nach zwei, drei und vier Tagen kontrolliert. Als Maß für die Proliferation des Erregers diente die Länge der entstandenen Läsion.

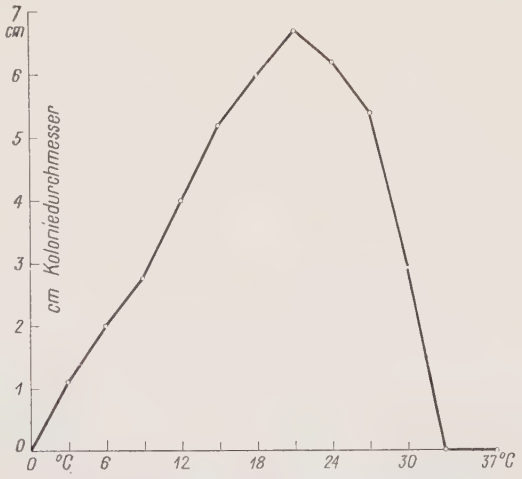


Abb. 5. Temperaturkurve von *Botrytis cinerea Pers.* in Malzagarkultur

Versuchsergebnis: Die ermittelten Durchschnittswerte sind in Abb. 6 dargestellt. Bei 18 ° C ist ein deutliches Optimum festzustellen. Dieses Temperaturoptimum gilt allerdings nur für die ersten zwei bis drei Tage nach erfolgter Infektion. Bei zunehmender Inkubationsdauer wird es nach den tieferen Temperaturen hin verschoben.

6. Der Einfluß der Brandnekrose auf das Gelingen der Infektion und auf das Ausmaß der Erkrankung

Versuchsfrage: Hat das Ausmaß der Brandnekrose am Bohnenstengel einen Einfluß auf die Läsionsgröße?

Versuchsanordnung: An unter gleichen Bedingungen aufgezogenen Buschbohnen der Sorte Wädenswil wurden mit glühenden Nadeln Brandwunden verursacht, und zwar bei einem Teil der Pflanzen mit einer Nadel, welche etwa 1/10 mm², beim anderen Teil mit einer solchen, die etwa 1 mm² Brandwunden zu machen erlaubte. Die Pflanzen wurden mit *Botrytis cinerea*-Mycel an dieser Stelle infiziert und nach dreitägiger Inkubation bei 18 ° C kontrolliert.

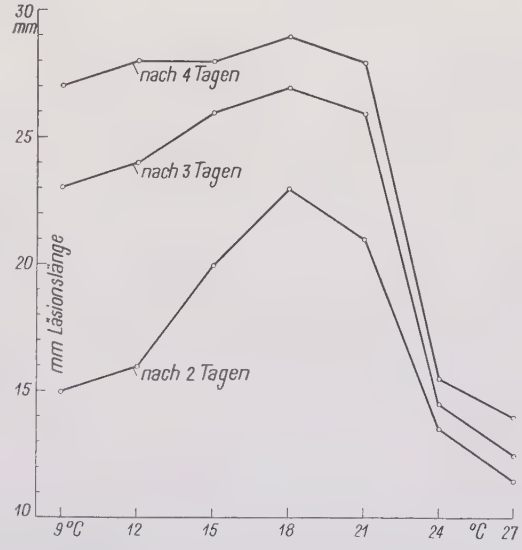


Abb. 6. Die Proliferation von *Botrytis cinerea Pers.* in *Phaseolus vulgaris* L. bei verschiedenen Temperaturen

Versuchsergebnis:

Tabelle 1

Die Abhängigkeit der Läsionsgröße vom Ausmaß der Brandverletzung

Brandnekrose	1/10 mm²	1 mm²
durchschnittliche Läsionslänge	10,1 mm	9,6 mm

Es zeigte sich, daß die Variationen der Brandverletzung in dem Ausmaß, wie sie in den Versuchen vorkommen können, keinen Einfluß auf die Proliferation von *Botrytis cinerea* hatten. Anderseits konnte festgestellt werden, daß ohne Brandnekrosen der Erfolg der Infektion sehr unsicher wurde. Während die auf diese Weise verletzten Bohnen zu 100 % befallen wurden, konnte an unverletzten Pflanzen oft nur ein relativ kleiner Prozentsatz geglückter Infektionen festgestellt werden.

7. Einfluß der Nährsalzkonzentration auf die Anfälligkeit von *Phaseolus vulgaris* L.

Versuchsfrage a): Hat die Konzentration der Nährlösung, der die Pflanzen während der Zeit der Infektion und nachher ausgesetzt sind, einen Einfluß auf die Größe der Läsion?

Erste Versuchsanordnung: Bohnen, die in Erde keimten und aufwuchsen, wurden sorgfältig ausgegraben und in Knoplösung folgender Konzentrationen verteilt: 2 x, 1 x, 1/2 x und H_2O. Am nächsten Tag wurden die Pflanzen mit *Botrytis cinerea*-Mycel beimpft und unter Glasglocken (Feuchtkammer) bei 18° C weitere vier Tage in den verschieden konzentrierten Nährlösungen belassen und dann kontrolliert.

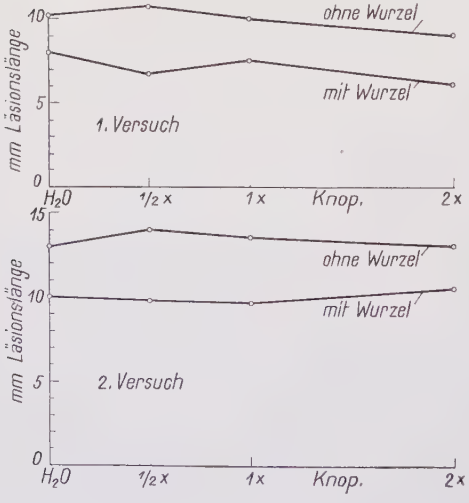


Abb. 7. Der Einfluß der Konzentration der Nährlösung, der die Bohnen während der Zeit der Infektion und nachher ausgesetzt waren, auf die Größe der Läsion

Zweite Versuchsanordnung: Dieselbe Anordnung wie oben; hier wurden aber die Wurzeln abgeschnitten (Schnitt mit einem scharfen Skalpell unmittelbar über dem Wurzelansatz). Beide Versuche wurden je zweimal durchgeführt.

Versuchsergebnisse: Die Ergebnisse zeigen, daß die Konzentration bei dieser Einwirkungsweise keinen Einfluß auf die Läsionslänge hatte (Abb. 7 zeigt die ermittelten Durchschnittswerte). Die Pflanzen ohne Wurzeln waren in beiden Versuchen etwas anfälliger als diejenigen mit Wurzeln.

Versuchsfrage b): Wie wirkt sich die Konzentration der Nährlösung, in denen die Bohnen aufwachsen, auf die Anfälligkeit gegenüber *Botrytis cinerea* Pers. aus?

Versuchsanordnung: Bohnen, die mit 1 ‰ Sublimat äußerlich desinfiziert worden waren und die man nachher in Wasser quellen ließ, wurden in Reagenzgläser auf verschieden konzentriertem Knop-A-Z-Agar verteilt und aufgezogen. Dabei wurden folgende Knop-Agar-Konzentrationen verwendet: 2 x, 1 x, 1/2 x und H_2O-Agar. Die Keimungs-und Wachstumstemperatur war 20° C. Bei einer Durchschnittsgröße der Pflanzen von etwa 20 cm wurden sie mit *Botrytis cinerea*-Mycel infiziert und unter feuchten Bedingungen zwei Tage bei 18° C gelassen. Hernach wurde kontrolliert und die Durchschnittswerte der Läsion ermittelt.

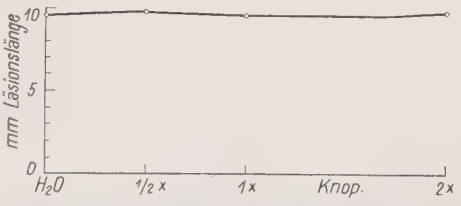


Abb. 8. Der Einfluß der Konzentration der Nährlösung, in der die Bohnen aufwuchsen, auf die Anfälligkeit gegenüber *Botrytis cinerea Pers.*

Versuchsergebnis: Auch bei diesem Versuch war kein Einfluß der Konzentration der Nährlösung auf die Anfälligkeit von *Phaseolus vulgaris* L. festzustellen (siehe Abb. 8).

8. Zusammenfassung und Schlußfolgerung aus den orientierenden Versuchen

Eine Infektionsmethode wird beschrieben, mit der es möglich ist, *Phaseolus vulgaris* L. mit 100 %iger Befallshäufigkeit mit *Botrytis cinerea* Pers. zu infizieren. Durch Umgehung des natürlichen Infektionsweges, der Durchdringung einer relativ dicken Kutikulapanzerung, kann mittels Brandwunden dieser hohe Befallsgrad erreicht werden. Zur Erfassung der optimalen Bedingungen für Infektion und Erkrankung mußten noch verschiedene orientierende Temperaturversuche mit Wirtspflanze und Erreger ausgeführt werden.

Tabelle 2

Die Ergebnisse der verschiedenen Temperaturversuche mit Wirtspflanze und Erreger zeigen folgende Optima

Für das Keimen von *Phaseolus vulgaris* L.	18—24° C
Für das Wachstum von *Phaseolus vulgaris* L.	27—30° C
Für das Wachstum von *Botrytis cinerea Pers.* in vitro	18—24° C
Für das Wachstum von *Botrytis cinerea Pers.* in vivo	18° C

Daher wurde in den folgenden Versuchen immer bei der konstanten Temperatur von 18° C inkubiert.

Die Konzentration des für die Aufzucht der Pflanzen verwendeten Nährsubstrates hat, wie weitere Versuche ergaben, keinen Einfluß auf die Anfälligkeit der Bohnen für *Botrytis cinerea*. Ebenso verfälschen kleinere Schwankungen im Ausmaß der Brandnekrosen die Infektionsergebnisse nicht.

C. Versuche über induzierte Abwehrreaktionen

1. Versuche über Prämunität

Versuchsfrage: Vermag ein bestehender Infekt gegen Superinfektion zu schützen?

Versuchsanordnung: Bohnenpflanzen von etwa 20 cm Größe wurden durch zeitlich auseinanderliegende Beimpfungen nach folgendem Schema behandelt:

erste Beimpfung vom 7. November → A = daraus resultierende Läsion,
zweite Beimpfung vom 9. November → B = daraus resultierende Läsion.

I = Zweite Infektion (B) im Abstand von 2,5 bis 3,0 cm von der ersten (A).
II = Zweite Infektion (B) direkt auf der ersten (A).
III = Nur erste Infektion (A).
IV = Nur zweite Infektion (B).

Versuchsergebnis:

Tabelle 3

Die Läsionslänge III A = 100 % dient als Bezugswert für die anderen Läsionen. Jeder Wert entspricht dem Durchschnitt aus 30 Pflanzen

I		II	III	IV	
A	B	A (B)	A	B	
94 %	63 %	94 %	100 %	61 %	Läsionslänge

Während die A-Infektionen überall die Größe 100 haben, sind die B-Infektionen überall in der Größe 60. Die Läsion bei II A (B) ist gleich groß wie Läsion III A (keine Summationswirkung). I A und I B zeigen, daß bei dieser Versuchsanordnung keine Prämunität festzustellen ist.

2. Die Sensibilisierung des Wirtes durch Filtrate von Nährlösungen

Versuchsfrage: Kann eine Veränderung der Anfälligkeit gegenüber *Botrytis cinerea* festgestellt werden, nachdem die Bohnenpflanzen mit Kulturfiltraten des Erregers behandelt wurden?

Versuchsanordnung: Wenn Kulturfiltrate von *Botrytis cinerea* ein in dieser Beziehung aktives Prinzip enthalten, so ist dieses am besten erfaßbar in einer Versuchsserie, in der einzelne Kulturfiltrate aus möglichst verschieden alten Kulturen unter sonst vergleichbaren Bedingungen ausgetestet werden. Ein solches aktives Prinzip müßte ja naturgemäß mit zunehmendem Alter der Kultur angereichert werden und dementsprechend auch stärker wirken.

Für meine Versuche wurden 400-cc-Erlenmeyerkolben mit je 100 cc autoklavierter Fries II-Nährlösung mit *Botrytis cinerea* beimpft, verschieden lange als Schüttelkultur bei 24 ° C kultiviert, und zwar so, daß alle Kolben des gesamten Versuches zur gleichen Zeit abgeerntet werden konnten. In einem Versuch wurde z. B. mit Kulturfiltraten aus Kulturen von 0 Tagen = Fries II

ohne Pilz = Kontrolle, 2 Tagen, 4 Tagen, 6 Tagen, 8 Tagen, 10 Tagen und 12 Tagen Kulturdauer gearbeitet.

Für jede der verschiedenen Zeitstufen wurden im Minimum zehn Erlenmeyerkolben verwendet. Nach Ablauf der gewünschten Wachstumszeit wurden alle Kulturen getrennt durch Faltenfilter filtriert (unter möglichst sterilen Bedingungen). Nachgereinigt wurden die Kulturfiltrate jeweils in Porzellannutschen mit Kieselgur.

Bohnensamen der Sorte Wädenswil, welche äußerlich mit 1 ‰ Sublimat desinfiziert und dann eine Stunde gründlich im Wasserstrahl ausgewaschen worden waren, wurden in den verschiedenen Kulturfiltraten während 18 Stunden gequollen, hernach kurz mit Wasser abgespült und dann in Erde in Mitscherlichtöpfe ausgesteckt. Die zehn Tage alten Pflanzen wurden dann nach der beschriebenen Methode mit *Botrytis cinerea* Pers. infiziert und in den Inkubationsraum gestellt. Drei Tage später wurden die Läsionen ausgemessen, deren Länge als Maß für die Anfälligkeit diente. Da mit sehr großen Streuungen gerechnet werden muß, wurde in mehrmals wiederholten Versuchen mit je einer möglichst großen Anzahl Pflanzen gearbeitet.

Die Versuchsergebnisse:

Abb. 9 zeigt den Kurvendurchschnitt von acht Versuchen. Für die Ermittlung dieser Durchschnittskurve dienten total 1968 Bohnenpflanzen.

Für jeden Versuch wurden die effektiven Werte in Prozente umgerechnet, wobei die Kontrolle (0 Tage = Fries II = Kontrolle) als 100 % galt.

Es ist, wie Abb. 9 zeigt, ein deutliches Absinken der Läsionsgröße, bei Verwendung von Kulturfiltraten von zunehmendem Kulturalter, festzustellen, hauptsächlich bei zwei- bis achttägigen Kulturen; ältere Kulturfiltrate ergeben annähernd konstante Werte (etwa 25 %ige Anfälligkeitsverminderung).

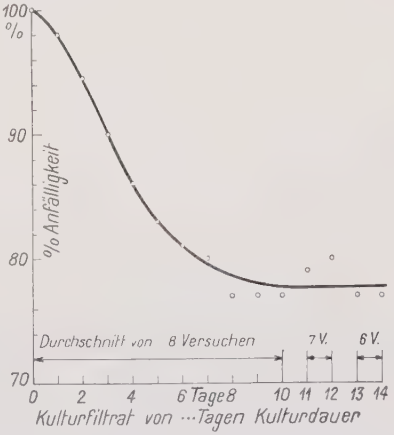


Abb. 9. Die Anfälligkeitsverminderung bei Bohnen nach deren Behandlung mit Kulturfiltraten des Erregers. Kurvendurchschnitt von 8 Versuchen

3. Präformierte fungi- und bakteriostatische Stoffe in Bohnenpflanzen

Beim Versuch, einen eventuell induzierten Abwehrstoff direkt durch Extraktion der Bohnenpflanzen nachzuweisen, gelang es, einen Stoff zu extrahieren, der verschiedene Pilze und Bakterien in ihrem Wachstum zu hemmen vermag.

a) Extraktionsmethode

Frische Bohnenpflanzen wurden, nach der Bestimmung ihres Frischgewichtes, mit 3 Teilen Methanol zu 1 Teil Pflanzengewicht im Turmix zerschlagen, der Brei einen Tag bei Zimmertemperatur stehengelassen und in einem Passiertuch ausgepreßt. Der Preßsaft wurde filtriert. Diese Flüssigkeit enthielt un-

gefähr 70 % Methanol. Im Vakuum wurde nun so weit eingedickt, daß möglichst viel Methanol entfernt, die Flüssigkeitsmenge also auf ungefähr 1/4 konzentriert wurde. Diese wäßrige Lösung wurde nun nochmals filtriert. Zu einem Gewichtsteil des Filtrates gab man hernach einen halben Gewichtsteil Ammoniumsulfat und auf etwa 1 Liter Lösung einen Teelöffel Kochsalz hinzu und schüttelte im Scheidetrichter zweimal mit Essigester aus. Der Essigesterlösung wurde 1/4 bis 1/3 Teil Methanol zugesetzt, der entstehende Niederschlag abfiltriert und das klare Filtrat im Vakuum eingedickt. Die stark konzentrierte Lösung konnte dann zum Testen verwendet werden.

b) Testmethoden

Der Stoff wirkt wachstumshemmend auf verschiedene Testorganismen, hauptsächlich auf Bakterien. Eine spezifische Gram-Spezialisierung konnte nicht festgestellt werden. Gehemmt werden *Bacillus subtilis* und *Bacillus megatherium*; aber auch einige gramnegative Organismen, z. B. *Escherichia coli*, sprechen deutlich auf diesen Stoff an, während andere, z. B. *Pseudomonas aeruginosa*, im Wachstum nicht beeinträchtigt werden. Der Extrakt wirkt auch fungistatisch z. B. auf *Botrytis cinerea* Pers. und *Fusarium solani*.

Der *Botrytis cinerea*-Plattentest:

Eine Reihe Malzagarplatten wurde gegossen, welche den Stoff in Verdünnungen von 4 : 2 : 1 : 1/2 : 1/4 : 1/8 : 1/16 usw. enthielten (Verdünnung 1 = annähernd die Konzentration des Stoffes in der Pflanze). Die Beimpfung der Platten erfolgte durch Auflegen eines mit dem Korkbohrer ausgestanzten Stückes einer *Botrytis cinerea*-Kultur (Malzagarkultur). Nach zweitägiger Bebrütung bei 20° C konnte festgestellt werden, daß der Pilz bei den höheren Konzentrationen nicht mehr anwuchs, während mit zunehmender Verdünnung das Wachstum langsam demjenigen der Kontrolle gleich wurde.

Plattentests mit anderen Pilzen können auf gleiche Weise durchgeführt werden.

Der Subtilisplattentest:

Auf vorbereitete Subtilisplatten (*Bacillus subtilis*-Sporen in Nähragar suspendiert) wurden Filterscheibchen ausgelegt, die in der zu testenden Lösung getränkt worden waren. Nach Bebrütung wurden die entstandenen Hemmhöfe ausgemessen.

c) Der Einfluß des Lichtes auf die Aktivität des Extraktes

Zehn Subtilisplatten wurden mit Filterscheibchen belegt, die genau gleiche Extraktmengen enthielten. Fünf Platten wurden bei vollständiger Dunkelheit, die restlichen in Tageslicht bei Zimmertemperatur unter sonst genau gleichen Bedingungen bebrütet. Bei der Kontrolle nach zwei Tagen zeigte es sich, daß die belichteten Platten scharf begrenzte Hemmzonen aufwiesen, während bei den in Dunkelheit aufbewahrten Platten keine Hemmung des Bakterienwachstums festgestellt werden konnte. — Diesen Versuch wiederholte ich mit einer größeren Menge von Subtilisplatten und mit verschieden langen Belichtungszeiten bei künstlichem Licht (Natriumdampflampe). 35 Subtilisplatten mit je

vier Filterscheibchen gleicher Giftkonzentration wurden unter der Lichtquelle inkubiert, dem Lichteinfluß nach verschiedener Einwirkungszeit entzogen und in Dunkelheit bei sonst gleichen Bedingungen weiter bebrütet. Die Belichtungszeiten waren die folgenden:

5 Subtilisplatten nicht belichtet (= Kontrolle),
5 Subtilisplatten während 7 Minuten belichtet,
5 Subtilisplatten während 15 Minuten belichtet,
5 Subtilisplatten während 30 Minuten belichtet,
5 Subtilisplatten während 60 Minuten belichtet,
5 Subtilisplatten während 120 Minuten belichtet,
5 Subtilisplatten während 240 Minuten belichtet.

Nach der Bebrütung wurden die Hemmhofdurchmesser festgestellt und die Durchschnitte ermittelt. Das Ergebnis dieses Versuches zeigte deutlich die Abhängigkeit der Aktivität von der Belichtungsdauer (siehe Abb. 10).

In einem weiteren Versuch wurde die Belichtungszeit konstant gehalten (vier Stunden) und die Konzentration variiert. Das Ergebnis dieses Versuches ist in Abb. 11 ersichtlich.

Diese beiden Versuche sind eigentlich nur als „Kuriosum" hier angeführt. Der erwähnte Extrakt hat, wie wir gesehen haben, sowohl fungistatische als auch bakteriostatische Wirkung. Bei Tests mit Pilzen wurde der Einfluß des Lichts auf die Aktivität nicht beobachtet. Um festzustellen, ob dieser Stoff präformiert in der Pflanze vorhanden ist oder ob er durch eine Infektion neu gebildet wird, mußten weitere Versuche angestellt werden, in denen Extrakte nicht infizierter mit solchen kranker Bohnen verglichen wurden. Es konnte kein Unterschied festgestellt werden. Die Wahrscheinlichkeit ist deshalb groß, daß es sich hier um einen präformierten fungi- und bakteriostatischen Stoff handelt. Entsprechende Hinweise auf die Existenz eines solchen eventuellen Resistenzfaktors in Bohnenpflanzen bekam ich auch in einem anderen Versuch. Malzagarplatten wurden mit *Botrytis cinerea* beimpft und vor den heranwachsenden Pilz ein der Länge nach aufgeschnittenes Stückchen eines Bohnenstengels mit Schnittfläche nach unten gelegt. Der Abstand des

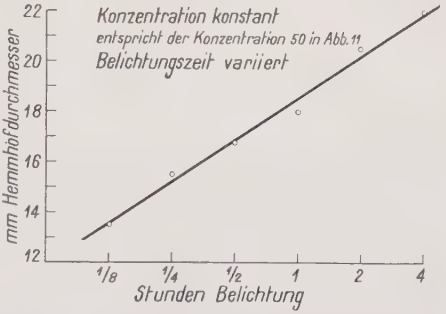


Abb. 10. Die Abhängigkeit der Aktivität des Extraktes aus *Phaseolus vulgaris* L. von der Belichtungsdauer (bei gleichbleibender Konzentration) im Subtilisplattentest

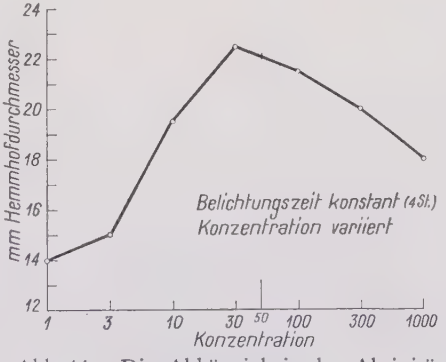


Abb. 11. Die Abhängigkeit der Aktivität des Extraktes aus *Phaseolus vulgaris* L. von der Konzentration (bei gleichbleibender Belichtungsdauer von vier Stunden) im Subtilisplattentest

Pilzes vom Bohnenstengel war am Anfang etwa 3 cm. Nach Bebrütung in 21 ° C wurde kontrolliert und festgestellt, daß das Wachstum von *Botrytis cinerea* gegen den Stengelteil hin gehemmt worden war. Im Vergleich zur Kontrolle mit 100 % wurden hier nur etwa 50 % beobachtet.

4. Der Nachweis von Toxinen in Kulturfiltraten von *Botrytis cinerea* Pers.

Meine Versuche über induzierte Abwehrreaktionen haben immer wieder gezeigt, daß *Botrytis cinerea* in künstlicher Kultur in bezug auf Wachstumsgeschwindigkeit, Wachstumsweise usw. sehr starken Schwankungen unterworfen ist und daß dementsprechend die Versuche über die Einwirkung der Kulturfiltrate auf Bohnenpflanzen erheblich verschiedene Kurvenbilder ergaben, so daß eine exakte Reproduktion einzelner Versuche unmöglich gemacht wird. Aus diesem Grunde versuchte ich, das Kulturfiltrat des Erregers näher zu definieren mit dem Ziel, einen mikrobiologischen Test zu finden, mit dem man möglichst genau und vor allem mit viel weniger Zeitaufwand jenes eventuell vorhandene „anfälligkeitsvermindernde Prinzip" nachweisen könnte.

Von den verschiedentlich veröffentlichten Arbeiten über *Botrytis cinerea*-Toxine interessiert vor allem die Arbeit von SAUTHOFF (1952); ihm gelang mit einer besonderen Kulturmethode, die Toxinproduktion derart zu steigern, daß bei 200facher Verdünnung des Kulturfiltrates noch eine 50 %ige Hemmung im *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest (KOBEL, 1951) gemessen werden konnte. Mit dieser speziellen Kulturmethode wurde die Toxinproduktion ungefähr verzehnfacht. Das Ergebnis eines meiner eigenen Versuche mit diesem Sporenkeimungstest ist in Abb. 12 dargestellt. Der Kurvenverlauf ist hier anders als bei den Ergebnissen SAUTHOFFS, möglicherweise auf Grund der anderen Kulturmethode. Es ist aber auch durchaus möglich, daß *Botrytis cinerea* auf verschiedenen Medien verschiedene Toxine bildet, wie dies bei anderen Pilzen auch der Fall ist. Die Kulturfiltrate, mit denen die in Abb. 12 dargestellten Ergebnisse erzielt wurden, stammten aus Standkulturen von *Botrytis cinerea* Pers. in Fries II-Nährlösung (21 ° C).

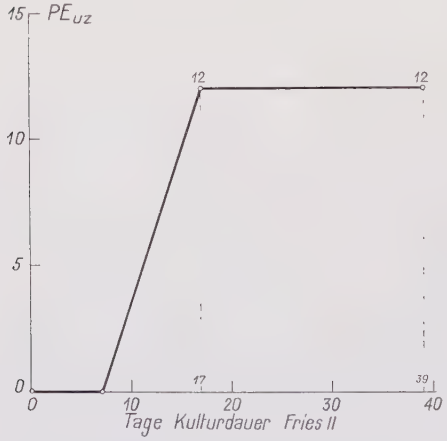


Abb. 12. Die Aktivität der Kulturfiltrate von *Botrytis cinerea Pers.* im *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest in Abhängigkeit von der Kulturzeit.
(PE UZ = Probit-Einheiten im *Ustilago zeae*-Test,
= Toxinmenge, die eine 50 %ige Keimungshemmung bewirkt)

Die Kulturlösung von *Botrytis cinerea* weist neben der Aktivität im *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest auch eine Wirkung im Randenscheibentest auf. Der übliche Randentest (GÄUMANN, JAAG und BRAUN, 1947; GÄUMANN und VON ARX, 1947) konnte für meine Zwecke nicht verwendet werden; denn eine kolorimetrische Messung ist nicht zuverlässig, weil das

Anthocyan durch gewisse Stoffe des Kulturfiltrates (unter Umständen durch das Toxin selbst) farblich stark verändert wird. Deshalb mußte versucht werden, den Anthocyanaustritt direkt zu verfolgen. Zu diesem Zwecke wurden Randenstücke mit dem Mikrotom in etwa 360 μ dicke Scheibchen geschnitten (Durchmesser der Scheiben: 3 cm). Diese wurden gewässert, in Petrischalen in die zu testende Lösung gebracht und während 18 Stunden zu 24 ° C gestellt. Abb. 13 zeigt die Wirkung von Kulturfiltraten (aus Standkulturen mit Fries II-Nährlösung bei 21 ° C) auf solche Randenscheibchen, und aus Abb. 14 ist das Ergebnis des Randenscheibentests mit verschieden alten Kulturen von *Botrytis cinerea* ersichtlich. 14 Tage altes Kulturfiltrat bewirkt noch in einer Verdünnung von $^1/_{30}$ einen Anthocyanaustritt aus den Randenscheiben, also eine Zerstörung der Semipermeabilität der Zellwände im Randengewebe.

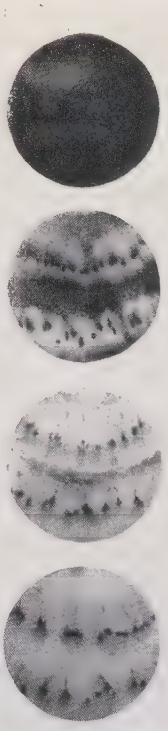


Abb. 13. Die Wirkung des Kulturfiltrates von *Botrytis cinerea Pers.* im Randenscheibentest

Für Tests wurde Wirkungsgrad 1 als Schwellenwert benützt. Die errechneten Einheiten wurden auf diesen Schwellenwert bezogen.

Tabelle 4

Die Extraktion von *Botrytis*-Toxin mittels Ionenaustauscher

Aktivität des Kulturfiltrates	
vor der Amberlite 4 B-Behandlung	nach der Amberlite 4 B-Behandlung
20 E Randenscheibenentfärbung	2 E Randenscheibenentfärbung
12 E Anthocyanentfärbung	1,5 E Anthocyanentfärbung
12 E *Ustilago*-Sporenkeimungstest	1,5 E *Ustilago*-Sporenkeimungstest
100 %	10 %

Es ist möglich, „randenaktives“ und „ustilagoaktives“ Toxin aus dem Kulturfiltrat zu extrahieren, und zwar mit Hilfe des Ionenaustauschers „Amberlite 4 B“, einer Extraktionsmethode, mit welcher 90 % der Aktivität aus

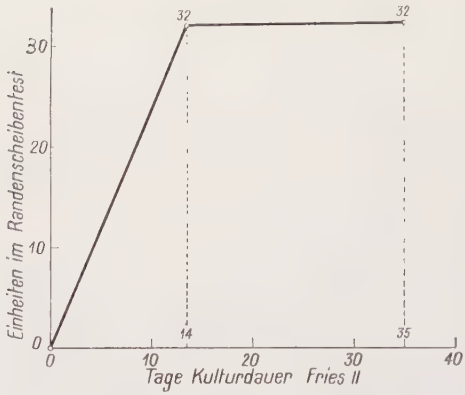


Abb. 14. Entfärbung von Randenscheiben durch Kulturfiltrat von *Botrytis cinerea* in Abhängigkeit von der Kulturdauer

dem Kulturfiltrat herausgeholt werden kann (siehe Tabelle 4).

Das Eluieren geschieht mit verdünnten Basen (Na-bicarbonat, Soda, NaOH: n/10). Durch Zusatz von 2 Teilen Alkohol zu 1 Teil Eluat entsteht ein weißer Niederschlag, der mehrmals zentrifugiert, umgefällt und gewaschen wird. Die Trockensubstanz wird in Wasser gelöst und getestet. *Ustilago*-Aktivität: 50 % Hemmung bei 1 mg/cc.

D. Zusammenfassung

1. Es werden verschiedene Versuche über induzierte Abwehrreaktionen beschrieben. Die Arbeiten wurden mit *Phaseolus vulgaris* L. und mit *Botrytis cinerea* Pers. durchgeführt.
2. Versuche über Prämunität hatten negative Ergebnisse.
3. An Hand einer größeren Menge von Versuchsmaterial gelang es, zu zeigen, daß eine Behandlung des Wirtes mit Kulturfiltraten des Erregers eine Anfälligkeitsverminderung von etwa 25 % zur Folge haben kann. Mit zunehmendem Alter der für diese Zwecke verwendeten Kulturlösungen von *Botrytis cinerea* nimmt auch das Ausmaß dieser Anfälligkeitsverminderung zu. Die maximalen Werte von etwa 25 % erreichte man mit Filtraten von 8 bis 14 Tage alten Kulturen.
4. Versuche mit Extrakten aus Bohnen ergaben, daß in Bohnen ein fungi- und bakteriostatischer Stoff vorhanden ist. Es wird eine Extraktionsmethode beschrieben, mit der es gelang, diesen Stoff anzureichern und für Versuchszwecke zu verwenden. Die bakteriostatische Wirkung dieses Stoffes ist in starkem Maße von der Lichteinwirkung abhängig. Der Stoff ist in Bohnenpflanzen präformiert vorhanden.
5. Die Toxizität der Kulturfiltrate wurde im *Ustilago zeae*-Sporenkeimungstest und im Randenscheibentest geprüft. Eine Extraktionsmethode für ein solches *Botrytis cinerea*-Toxin wird beschrieben.

E. Literaturverzeichnis

ARATA, M., 1935: Bol. Ist. Sier. Mil. **19**, 1—38.
ARNAUDI, C., 1933: Phytopath. Zeitschr. **6**, 525—530.
CARBONE, D. ed KALAJEV, A., 1933: Phytopath. Zeitschr. **5**, 91—97.
— —, 1934: Natura **25**, 111—134.
GÄUMANN, E., JAAG, O. und BRAUN, R., 1947: Experientia **3**, 70—71.
— — und von ARX, A., 1947: Ber. Schweiz. Bot. Ges. **57**, 174—183.
JARACH, M., 1932: Phytopath. Zeitschr. **4**, 315—327.
KOBEL, F., 1952: Phytopath. Zeitschr. **18**, 157—195.
SAUTHOFF, W., 1952: Phytopath. Zeitschr. Mitteilung. **19**, 483—484.

Note sur
Lophodermium macrosporum (Hartig) Rehm

Par

Ch. Terrier, Lausanne

Dans sa magnifique monographie des *Hypodermataceae* rencontrées sur les Conifères, Darker (1932) signale que quatre espèces du genre *Lophodermium* Chev. ont pour hôtes des représentants du genre *Picea* Dietr.; ce sont: *L. macrosporum* (Hartig) Rehm sur *Picea Abies* (L.) Karst. en Europe et en Asie, *L. piceae* (Fuckel) v. Hoehnel sur divers *Picea* et divers *Abies* en Europe et en Amérique du Nord, *L. filiforme* Darker sur *Picea glauca* (Moench) Voss, *P. Engelmannii* (Parry) Engelm. et *P. mariana* (Mill.) BSP. en Amérique du Nord et *L. crassum* Darker sur *Picea breweriana* S. Wats. en Californie. Selon cet auteur, *L. crassum* présenterait beaucoup de similitude avec *L. piceae.* Quant à *L. filiforme,* il se substituerait en Amérique du Nord à *L. macrosporum,* dont il ne différerait guère que par la dimension des spores, celles-ci ayant une longueur de 135—160 μ chez l'espèce américaine et 50—75 μ chez l'espèce européenne.

Dans une publication antérieure (Terrier, 1942, p. 30), j'attirais l'attention sur le fait qu'il existe en Suisse sur *Picea Abies* (L.) Karst. (= *P. excelsa* [Lam.] Link) un *Lophodermium* qui, à en juger par la longueur de ses ascospores, doit être considéré comme appartenant à l'espèce *filiforme* décrite par Darker et non à celle à laquelle Hartig (1874) avait donné l'épithète *macrosporum.* Il me parut singulier qu'aucun mycologue européen n'ait constaté précédemment la présence du champignon à longues spores sur le vieux continent et que, d'autre part, Darker en particulier n'ait pas trouvé *L. macrosporum* en Amérique du Nord. Cependant, tout récemment, Gilman (1952) a signalé que cette dernière espèce a été observée pour la première fois aux Etats-Unis sur *Picea rubens* dans l'Etat de Vermont. Comme ces deux formes possèdent des caractères morphologiques et biologiques très voisins, je vins à supposer qu'il pouvait s'agir éventuellement d'une seule et même espèce.

On peut se demander, en effet, comment il se fait qu'Hartig n'indique que 60 μ pour la longueur des spores alors qu'il semble avoir voulu spécialement insister sur la particularité qu'offre sa nouvelle espèce, c'est-à-dire de posséder des spores de grandes dimensions. Une erreur typographique se serait-elle glissée dans la description originale, ou bien l'auteur aurait-il confondu les ascospores de deux champignons différents vivant sur les aiguilles d'épicéa? En outre, est-ce que les mycologues qui par la suite étudièrent cette espèce auraient examiné du matériel ne contenant que des spores imma-

tures, soit que les hystérothécies n'eussent pas encore atteint le stade de maturité au moment de la récolte des échantillons, soit au contraire qu'elles eussent déjà éjaculé les spores mûres et ne renfermassent plus que des asques juvéniles, puisque les dimensions indiquées dans la littérature ne justifient pas l'épithète „*macrosporum*", surtout si l'on songe à la longueur des ascospores d'autres représentants de ce genre vivant également sur les conifères?

Le rapprochement à faire entre *L. macrosporum* et *L. filiforme* me paraissait d'autant plus plausible que les mensurations effectuées par DARKER sur le matériel américain l'ont été sur des spores fraîchement éjaculées, donc mûres, recueillies sur lamelle de verre, méthode que j'ai également appliquée sur le matériel européen.

La présente note n'a d'autre intention que de répondre aux questions posées ci-dessus et d'établir le bien-fondé de mes suppositions.

Dans la description originale de *Hysterium (Hypoderma) macrosporum*, HARTIG (1874, p. 106) écrit: „In den Schläuchen entstehen die cylindrischen Sporen (Fig. 12), deren Länge ca. 60 Mikr. beträgt und zur Wahl des Artnamens mich veranlaßte. Sie sind nach oben hin gleichmäßig dick, kaum an der Spitze etwas verdickt, gegen unten spitzen sie sich allmählich zu. Die reifen Sporen reichen meist von der Spitze des Askus bis zur Basis, liegen zu 8 meist parallel nebeneinander oder sind auch spiralig im Innern des Schlauches gedreht."

HARTIG est donc sobre de chiffres puisqu'il ne donne qu'une seule dimension pour la longueur des spores et qu'il ne mentionne pas celle des asques. Mais, cette dimension ne correspond pas à celles que l'on peut déduire des figures de la planche VI de l'ouvrage cité. En effet, les spores de l'espèce *macrosporum* y sont représentées (figs 11 et 12) au grossissement 360 : 1 et mesurent 45—50 mm, ce qui fait qu'en réalité elles ont une longueur de 125—138 μ.

L'auteur aurait-il commis une erreur dans le calcul du grossissement de ses figures? C'est peu probable et voici pourquoi. Dans la même publication (1874), il parle de l'épaisseur de la strate tectrice qui est, vers les lèvres, de 100 μ. Or, cette strate tectrice est représentée à la figure 10, où le grossissement est de 90 : 1, et elle y mesure 9 mm., ce qui correspond exactement à 100 μ. Par ailleurs, cette même figure montre des spores de 14—16 mm., donc ayant en réalité de 155—177 μ. Par conséquent, il semble bien établi que, pour HARTIG, le champignon sur épicéa possède des spores d'une longueur variant de 125—180 μ. En conclusion, on peut donc admettre que c'est à la suite d'une erreur typographique que le texte indique 60 μ pour la longueur des spores et que c'est certainement 160 μ que l'auteur voulait écrire. Toutefois, il se pourrait cependant qu'il y ait eu confusion avec des mensurations effectuées sur *Lophodermium piceae* que FUCKEL avait décrit l'année précédente (1873) sous le nom de *Phacidium piceae*.

HARTIG voulait avant tout montrer que l'espèce rencontrée sur les aiguilles d'épicéa est distincte de celle qui parasite les feuilles du sapin blanc

et dont les fructifications sont également allongées. Il écrit en effet (1874, p. 115) au sujet de *Hysterium (Hypoderma) nervisequium* DC.: „Die Asken sind um weniges breiter als bei *Hyp. macrosporum.* Der wichtigste Artunterschied liegt aber in Gestalt und Größe der Sporen. Während nämlich bei dem Fichtenparasiten die nur wenig gekrümmten Sporen die Länge des Askus nahezu erreichen, zeigen diejenigen des Weißtannenpilzes meist stark S-förmig gekrümmte Gestalt und eine Länge, welche nicht die Hälfte der Askusgröße erreicht." Il est regrettable que dans ce texte il ne donne aucune dimension, si ce n'est le rapport qui existe entre la longueur des spores et celle des asques. Mais, heureusement, les spores de *H. nervisequium* sont représentées dans cet ouvrage (figs 23 et 24) et au même grossissement (360 : 1) que celles de *H. macrosporum.* Elles mesurent 18—25 mm., ce qui correspond respectivement à 50 et 69 μ. Donc, le distingué mycologue avait déjà constaté que les spores du parasite de l'épicéa ont une longueur double de celles du champignon vivant sur le sapin blanc. Du reste, il le dit clairement plus tard (1882, p. 126): „Die Sporen *(H. macrosporum)* sind um das Doppelte länger als die des Weißtannenritzenschorfes (*H. nervisequium*)."

Tableau 1

Longueur des ascospores de divers *Lophodermium* suivant les auteurs

Auteur	Année	Longueur des ascospores en μ			
		L. piceae	*L. macrosporum*	*L. filiforme*	*L. nervisequium*
Fuckel	1873	112	—	—	—
Hartig	1874	—	60	—	—
„	„	—	125—177	—	50— 70
Rehm	1896	—	75	—	50— 60
Lagerberg	1910	—	75 — 95	—	55— 66
Hilitzer	1929	75— 90	70 —100	—	50—115
Darker	1932	60— 95	56 — 68	115—160	75— 90
Tehon	1935	85—115	50 — 80	115—160	—
Terrier	1942	57—111	—	91—166	41— 75

Ainsi qu'en témoigne le tableau 1, les auteurs subséquents n'ont pas pris en considération ce critère sporologique. Aucun d'entre eux n'accorde aux spores de *L. macrosporum* une longueur double de celles de *H. nervisequium.* Il est fort probable, voire certain, qu'ils ne se sont pas préoccupés de savoir si le champignon qu'ils avaient sous le microscope avait atteint le stade de maturité. Par exemple, Lagerberg (1910, fig. 9 b) représente un asque provenant typiquement d'une hystérothécie immature ou de la marge de l'hyménium d'une fructification éventuellement mûre. Par conséquent, les spores figurées n'ont pas encore acquis leur forme définitive, celle qu'elles possèdent au moment de leur libération par éjaculation hors des asques. C'est sans doute du fait que ces organes sont immatures que l'auteur suédois a été induit en erreur et qu'il a pensé devoir transférer l'espèce *macrosporum* dans le genre *Hypodermella* v. Tubeuf.

Il est évident que DARKER (1932), examinant des spores expulsées d'asques parvenus à maturité normale, devait leur trouver des dimensions qui ne concordaient pas avec celles indiquées dans la littérature pour l'espèce *macrosporum*, ni à celles qu'il avait déterminées sur les échantillons d'herbiers européens, ceux-ci contenant le plus souvent des hystérothécies encore fermées ou dont les asques situés au centre de l'hyménium sont débarrassés de leur contenu. Par conséquent, il est compréhensible que cet auteur ait été amené à considérer le parasite rencontré sur les épicéas en Amérique du Nord comme distinct de celui répandu en Europe, surtout qu'il ne paraît pas avoir eu en mains l'ouvrage dans lequel HARTIG (1882) précise que les spores de *L. macrosporum* ont une longueur double de celles de *H. nervisequium*.

En fait, si l'on s'en tient au critère de la longueur des spores, il ressort des chiffres cités par DARKER (cf. tableau 1) que celles de *L. filiforme* sont bien 1,5 à 2,0 fois plus longues que celles de *H. nervisequium*. Donc, sur ce point, le champignon rencontré Outre-Atlantique est conforme à la définition donnée par HARTIG pour *L. macrosporum*.

Existe-t-il véritablement chez nous, comme le laissait supposer la présence en Suisse d'une forme identifiable à *L. filiforme* Darker, deux espèces affines, mais distinctes, de *Lophodermium* à fructifications allongées, vivant sur les aiguilles d'épicéa? Pour le vérifier, j'ai procédé, sur un certain nombre d'échantillons dont la liste figure dans le tableau 2, à la mensuration des asques et des ascospores de *L. macrosporum*.

Les préparations 1 à 15 ont été obtenues par écrasement des hystérothécies entre la lame porte-objet et la lamelle couvre-objet après chauffage préalable dans le bleu lactique. Quant aux préparations 16 à 19, il s'agit d'ascospores, également dans le bleu lactique, recueillies au moment de leur éjaculation à la face inférieure d'une lamelle couvre-objet placée au-dessus des fructifications. Toutes les mensurations ont été effectuées à l'aide du même microscope et de la même combinaison optique, un degré d'échelle micrométrique équivalant à 2,75 μ. Les mesures ont porté sur 50 asques, respectivement 100 ascospores, pour chaque échantillon.

Il ressort du tableau 2 les faits suivants: 1 ° la longueur des asques de *L. macrosporum* peut varier de 81 à 168 μ, la moyenne oscillant, suivant les échantillons, entre 127 et 152 μ; 2 ° la longueur des ascospores se situe entre 48 et 183 μ, la moyenne passant, suivant les échantillons, de 64 à 143 μ; 3 ° la longueur moyenne des asques peut être de 1,3 à 2,1 fois la longueur moyenne des ascospores, mais ces dernières atteignent parfois la longueur des asques ou sont même plus longues; 4 ° la longueur moyenne des ascospores est nettement plus grande lorsqu'elle est établie sur des spores éjaculées plutôt que sur des spores libérées des asques par pression, comme cela apparaît nettement si l'on compare les dimensions obtenues à partir du même matériel (préparations 8 et 19); 5 ° on ne peut ranger les échantillons examinés en deux groupes, l'un comprenant les représentants d'une forme à spores „courtes", l'autre ceux d'une espèce à spores „longues"; 6 ° seules les mesures effectuées sur des spores éjaculées permettent de déterminer leurs dimensions réelles,

Tableau 2 Variation de la longueur des asques et des ascospores de *Lophodermium macrosporum* (Hartig) Rehm

No.	Echantillons examinés	Longueur des asques en μ		Longueur des ascospores en μ		long. moy. des asques / long. moy. ascospores
		Valeurs extrêmes	Moyenne $\pm \sigma$	Valeurs extrêmes	Moyenne $\pm \sigma$	
1	Neuchâtel, Roche de l'Ermitage, 9 mai 1943!	81,3 — 157,1	127,0 ± 12,3	48,1 — 86,6	64,2 ± 6,1	1,97
2	Småland, Värnamo-Åmine, 25 mai 1936!	92,1 — 157,1	124,8 ± 11,9	50,8 — 87,6	65,6 ± 6,5	1,90
3	Mähr.-Weißkirchen, An der Straße nach Usti, Mai 1936, leg. F. Petrak.	97,5 — 157,1	135,5 ± 11,8	50,8 — 89,3	66,1 ± 5,6	2,04
4	Königstein a./Elbe, Mai 1892, leg. W. Krieger (Rehm, Ascom. No. 1066).	92,1 — 157,1	130,0 ± 11,9	45,3 — 87,6	67,8 ± 6,1	1,91
5	Åsen entre Uppsala et Ultuna, 19 avril 1936!	102,9 — 178,8	143,9 ± 15,5	50,8 — 83,8	68,8 ± 6,4	2,09
6	Uppsala, Norbyskogen, 14 juin 1936!	102,9 — 157,1	128,5 ± 12,7	50,8 — 87,6	70,4 ± 5,7	1,82
7	Lausanne, Bois des Biolles, 30 avril 1939!	92,1 — 168,0	128,5 ± 17,1	61,8 — 125,1	81,6 ± 17,3	1,57
8	Entre Daillet et Nax, Torrent Dérochia, 31 mai 1942!	113,8 — 189,7	153,0 ± 15,7	56,3 — 130,6	89,6 ± 19,4	1,70
9	Belmont, Ravin de la Paudèze, 7 avril 1935, leg. G. Défago.	113,8 — 168,0	139,6 ± 15,6	61,8 — 141,5	94,3 ± 15,7	1,48
10	Saxon, La Panissière, 15 mai 1944!	81,3 — 135,5	116,2 ± 9,9	56,3 — 125,1	94,7 ± 15,4	1,22
11	Courgenay, 3 mars 1935!	124,6 — 178,8	153,9 ± 11,7	67,3 — 163,6	102,9 ± 10,6	1,49
12	Courgenay, 16 mars 1935!	124,6 — 211,3	160,4 ± 11,5	70,1 — 163,6	104,9 ± 19,4	1,52
13	Courgenay, 16 mars 1935!	135,5 — 200,5	160,4 ± 14,5	72,8 — 141,6	105,7 ± 17,7	1,51
14	Zürichberg, 24 février 1935!	135,5 — 178,8	155,4 ± 13,0	75,6 — 158,1	114,5 ± 17,6	1,35
15	Courgenay, 21 avril 1935!	124,6 — 168,0	151,9 ± 9,6	75,6 — 147,1	116,8 ± 15,9	1,30
16	* Courgenay, 21 avril 1935!	—	—	91,5 — 165,8	130,4 ± 10,5	—
17	* Epalinges, Bois de Chandelard, 22 mars 1942!	—	—	108,5 — 166,3	133,6 ± 11,9	—
18	* Montblesson s/Lausanne, 3 avril 1949!	—	—	100,3 — 182,9	136,6 ± 14,8	—
19	* Entre Daillet et Nax, Torrent Dérochia, 31 mai 1942!	—	—	116,9 — 182,9	142,7 ± 10,9	—

* = Spores éjaculées

celles qui sont caractéristiques pour l'espèce considérée; 7° la longueur des ascospores de *L. macrosporum* (Htg.) Rehm est approximativement le double de celles de *H. nervisequium*.

Il semble donc bien démontré qu'il n'existe sur les représentants du genre *Picea* qu'une seule espèce morphologique, à spores filiformes, du type *Lophodermium macrosporum* (Hartig) Rehm. Les ascospores ont bien la longueur, lorsqu'elles sont mûres, que HARTIG a indiquée en 1874, non pas dans le texte, mais dans les figures de la planche VI de son ouvrage, longueur qui est approximativement le double de celle des ascospores de *Hypodermella nervisequia* (DC) Lagerberg, comme le précisait cet auteur dans sa publication de 1882. Par la suite, les mycologues ont attribué aux ascospores de cette espèce des dimensions qui ne correspondent pas à celles que l'on obtient par la mesure d'organes mûrs et par conséquent, elles ne sont pas caractéristiques. La forme que DARKER (1932) a observée en Amérique du Nord et qu'il considère comme distincte de l'espèce européenne à cause de ses spores plus longues, doit être identifiée à *L. macrosporum* (Hartig) Rehm, et *L. filiforme* Darker réduit au rang de synonyme, le premier nom jouissant de la priorité.

La synonymie complète s'établit donc comme suit:

Lophodermium macrosporum (Hartig) Rehm, 1887, Rabh.'s Krypt.-Fl. **1** (3), p. 45.

Synonymes:

Hysterium (Hypoderma) macrosporum Hartig, 1874, Wicht. Krankh. der Waldbäume, p. 101.

Hypoderma longisporium Hartig apud Thümen, 1874, Herb. mycol. No. 79.

Hypodermella macrospora Lagerberg, 1910, Skogsv. Tidskr., p. 148.

Hypodermina Hartigii Hilitzer, 1929, Trav. Acad. tchécosl. Agric. **3**, p. 57.

Lophodermium filiforme Darker, 1932, Contr. Arn. Arbor. **1**, p. 85.

Lophodermellina macrospora Tehon, 1935, Ill. biol. Monogr. **13** (4), p. 76.

Dermascia filiformis Tehon, 1935, Ill. biol. Monogr. **13** (4), p. 66.

Zusammenfassung

In seiner hervorragenden Monographie über die auf Koniferen lebenden Hypodermatazeen beschrieb DARKER (1932) u. a. eine neue, in den Nadeln von verschiedenen Vertretern der Gattung *Picea* parasitierende *Lophodermium*-Art, nämlich *L. filiforme*. Diese nur aus Nordamerika bekannte Spezies soll sich von der nahe verwandten europäischen Art *L. macrosporum* (Hartig) Rehm im wesentlichen dadurch unterscheiden, daß ihre Sporen eine Länge von 115 bis 160 μ besitzen, während diejenigen des letztgenannten Pilzes nur 50 bis 75 μ messen.

Der Verfasser kam zur Vermutung, daß es sich trotzdem um ein und dieselbe Spezies handeln könnte, weil sich die von DARKER an amerikanischem

Material ausgeführten Messungen auf reife, frisch ausgeschleuderte Sporen beziehen und nicht auf junge Organe wie bei den von ihm und anderen Mykologen an dem europäischen Parasiten gemachten Beobachtungen. Außerdem weisen *L. filiforme* und *L. macrosporum* sowohl morphologisch als auch biologisch sehr enge Beziehungen auf.

Die zum Nachweis der Richtigkeit dieser Vermutung ausgeführten Untersuchungen haben folgendes ergeben:

1. Die Länge von 60 μ, die Hartig (1874) im Text der Originalbeschreibung von *Hysterium (Hypoderma) macrosporum* den Askosporen dieses Pilzes zuschreibt, trifft nicht zu, denn die von diesem Autor in derselben Publikation abgebildeten Sporen müssen, wie es sich leicht berechnen läßt, eine Länge von 125 bis 177 μ gehabt haben.

2. Hartig (1882) schreibt ausdrücklich: „Die Sporen sind um das Doppelte länger als die des Weißtannenritzenschorfes *(H. nervisequium)*". Dieser Bemerkung wurde bisher von den Mykologen keine Beachtung geschenkt, wie es die in Tabelle 1 wiedergegebenen Sporendimensionen von *L. macrosporum* und *H. nervisequium* bezeugen.

3. Die von den Mykologen für die Länge der Askosporen von *L. macrosporum* angegebenen Werte beziehen sich sämtlich auf Messungen, die an unreifen Sporen ausgeführt wurden und die deshalb für diese Art als nicht charakteristisch anzusehen sind (cf. Tabelle 2, Nr. 1—15).

4. In Übereinstimmung mit den Abbildungen von Hartig (1874) konnte festgestellt werden, daß reife, ausgeschleuderte Sporen 90 bis 180 μ, meistens aber 130 bis 145 μ lang sind (cf. Tabelle 2, Nr. 16—19).

Dadurch scheint der Nachweis erbracht, daß auf *Picea* nur eine, fadenförmige Sporen besitzende Art von *Lophodermium* vorkommt, nämlich *L. macrosporum* (Hartig) Rehm. Die in Amerika von Darker beobachtete langsporige Form ist wohl mit dem europäischen Pilz identisch. *L. filiforme* muß deshalb als Synonym von *L. macrosporum* betrachtet werden.

Ouvrages cités

Darker, G. D., 1932. The *Hypodermataceae* of Conifers. Contributions from the Arnold Arboretum of Harvard University **1**, 1—131.

Fuckel, L., 1873. *Symbolae mycologicae.* Zweiter Nachtrag dazu. Jahrb. d. nassauischen Ver. f. Naturkunde *27—28*, 1—99.

Gilman, J. C., 1952. The annual Foray of the Mycological Society of America, 1951. Mycologia **44**, 716—719.

Hartig, R., 1874. Wichtige Krankheiten der Waldbäume. J. Springer, Berlin.

— —, 1882. Lehrbuch der Baumkrankheiten. 1. Aufl., J. Springer, Berlin.

HILITZER, A., 1929. Etude monographique sur les espèces de l'ordre *Hysteriales,* trouvées en Bohême, et sur les épiphyties qui en sont causées. Travaux scientifiques de l'Académie tchécoslovaque d'Agriculture **3**, 1—162. (En tchèque avec résumé français.)

LAGERBERG, T., 1910. Om gråbarrsjukan hos tallen, dess orsak och verkningar. Skogsvårdsfören. Tidskrift, 1910, 127—174.

REHM, H., 1896. Ascomyceten: Hysteriaceen und Discomyceten.. Rabenhorst's Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz. Pilze **3**, 1—1275. 2. Aufl. Leipzig.

TEHON, L. R., 1935. A monographic rearrangement of *Lophodermium.* Illinois biol. Monogr. **13** (4), 1—151.

TERRIER, C. A., 1942. Essai sur la systématique des *Phacidiaceae* (Fr.) *sensu* Nannfeldt (1932). Matériaux pour la flore cryptogamique suisse IX, fasc. **2**, 1—99.

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg

Die „Schwarzbeinigkeit" der Phaseolus-Arten

Von

M. Klinkowski und L. Behr

Mit 13 Abbildungen

Im mitteldeutschen Bohnenanbaugebiet ist im Jahre 1948 eine Krankheitserscheinung an Stangenbohnen beobachtet worden, die auch in den darauffolgenden Jahren nachzuweisen war. Die ersten Untersuchungen wurden im Stangenbohnenzuchtgarten des damaligen Zuchtbetriebes der Deutschen Saatgutgesellschaft in Aschersleben durchgeführt. Die gleiche Krankheit wurde bald danach in einem Stangenbohnensortiment auf dem Versuchsfeld der Landwirtschaftlichen Institute der Universität Halle sowie an anderen Orten Mitteldeutschlands (z. B. Zuchtgarten des Institutes für Pflanzenzüchtung, Quedlinburg) nachgewiesen.

Bei den Zuchtgartenpflanzen, die im Verlauf ihrer gesamten Entwicklung einer ständigen Kontrolle unterliegen und laufend auf bestimmte Wertmerkmale bonitiert werden, waren bis zur Blütezeit keine pathologischen Erscheinungen festzustellen. Auch zu Beginn des Hülsenansatzes ließ nichts auf eine Infektion deuten. In der ersten Hälfte des Monats August setzte dann schlagartig bei bestimmten Sorten eine Welke ein, die im Verlauf weniger Tage die Pflanzen zum Absterben brachte oder, was häufiger der Fall war, vereinzelt noch eine Notreife einzelner Hülsen gestattete. Wesentlich dafür, ob ein Absterben der infizierten Pflanze erfolgt, ist der Temperaturfaktor, wobei höhere Temperaturen den Absterbeprozeß begünstigen bzw. überhaupt erst möglich machen. Innerhalb eines großen Sortiments waren hiervon die Stangenbohnensorten „Mombacher" und „Juli" betroffen, während alle übrigen Sorten gesund blieben. Im Verlauf weiterer Untersuchungen wurde Freilandbefall bei den Stangenbohnensorten „Granda Wachs × Saxa Gold" sowie anderen Kreuzungen, bei denen „Mombacher" oder

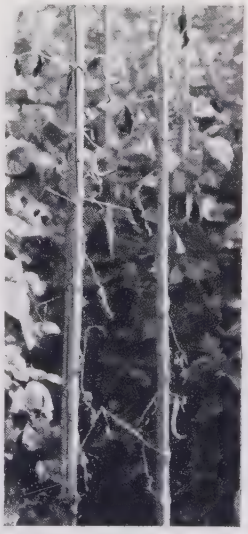


Abb. 1. „Schwarzbeinige" Pflanzen innerhalb eines Stangenbohnenbestandes

„Juli" als Elter dienten, festgestellt. Später wurde bei Buschbohnen das gleiche Krankheitsbild nachgewiesen (Sorte „Bernburger Schwarze"). Charakteristisch für dieses Krankheitsbild ist das schlagartige Einsetzen der Welkeerscheinungen, das stets erst nach Abschluß der Blüte, meist im Stadium der „Grünreife" der Hülsen erfolgt.

Das Krankheitsbild

Die Untersuchung der welkekranken Pflanzen ergab in allen Fällen den Nachweis einer starken Schädigung der Wurzel, die stets dunkel bis nahezu schwarz verfärbt war. Das Ausmaß der Wurzelzerstörung ist sehr wechselnd, stets ist jedoch die Pfahlwurzel zerstört. Dieses charakteristische Kennzeichen gab uns, da auch der basale Teil des Hypokotyls dunkel verfärbt war, Veranlassung, diese Krankheit als „Schwarzbeinigkeit" zu bezeichnen. Die naheliegende Vermutung, daß die Krankheit von der Wurzel ihren Ausgang nimmt und in einem Stadium fortgeschrittener Entwicklung dann zu den bereits geschilderten Welkeerscheinungen führt, veranlaßte uns, die Untersuchungen zunächst nach dieser Richtung hin durchzuführen.

Abb. 2. Wurzel einer „schwarzbeinigen" Pflanze

Krankheitserscheinungen ähnlichen Verlaufes sind bei einer Reihe von Kulturpflanzen als Folge von Tracheomykosen bzw. Tracheobakteriosen bekannt. Untersuchungen mit dieser Fragestellung ließen jedoch eindeutig erkennen, daß die isolierten Pilze und Bakterien, wie durch Infektionsversuche in den darauffolgenden Jahren erwiesen wurde, lediglich Schwächeparasiten darstellten und als primäre Ursache dieser Erkrankung auszuschließen waren.

Nichtparasitäre Krankheitsursachen, wie spezifischer Nährstoffmangel u. a., konnten ebenfalls unberücksichtigt bleiben, da die Krankheit stets nur bei bestimmten Sorten anzutreffen war und im Verlauf mehrerer Jahre an sehr unterschiedlichen Standorten immer wieder der gleiche Verlauf des Krankheitsprozesses zu verfolgen war. Ein weiteres Krankheitsmerkmal, das stets zu beobachten war, verdient noch besondere Erwähnung. Bei den gewelkten Pflanzen waren Nekrosen nicht nur in den Wurzeln deutlich erkennbar, sie traten vielmehr auch im Haupttrieb auf und griffen von dort aus auf die Hülsen über, während die Blattstiele anfänglich diese nekrotischen Verfärbungen nicht erkennen ließen. Speziell die Verfärbung des Xylems ist sehr auffallend. Die Nekrosen waren in vorgeschrittenen Stadien der Erkrankung in nahezu allen Teilen des Haupttriebes und der Seitentriebe nachzuweisen. Zu Beginn der Welkeerscheinungen zeigten sie sich häufig nur im basalen

Abb. 3. Schematische Übersicht über die Infektion von Stangenbohnen, die unter Symptomen der „Schwarzbeinigkeit" erkrankt sind. Die schwarz gehaltenen Teile des Stengels und der Hülsen kennzeichnen das Ausmaß der Infektion

und mittleren Teil des Haupttriebes, während die Seitentriebe nur teilweise oder überhaupt noch nicht erfaßt waren. Zahlreiche Untersuchungen über den Ausbreitungsmodus haben gezeigt, daß das Auftreten der Nekrosen mit dem Beginn der Welkeerscheinungen ursächlich verbunden ist und daß im Verlauf weniger Tage die ganze Pflanze hiervon betroffen wird. Stets sind die basalen Teile des Haupttriebes als erste in Mitleidenschaft gezogen. Von hier breiten sich die Nekrosen schnell im Haupttrieb bis zur Sproßspitze aus, während die Ausbreitung in den Seitentrieben zögernder erfolgt und keineswegs immer entsprechend ihrer Insertion am Haupttrieb vonstatten geht (siehe Abb. 3 und 4).

Abb. 4. Schematische Übersicht über die Infektion einer Buschbohne, die unter Symptomen der „Schwarzbeinigkeit" erkrankt ist. Die schwarz gehaltenen Teile des Stengels und der Hülsen kennzeichnen das Ausmaß der Infektion

Die kausale Beziehung zwischen Welkeerscheinungen und dem Auftreten der

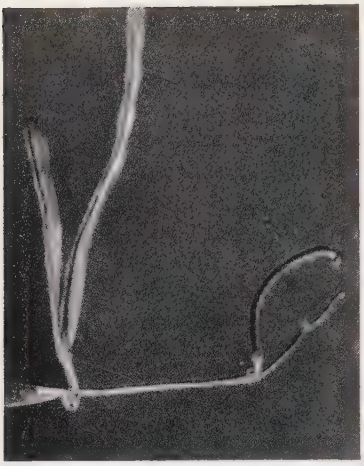


Abb. 5. Nekrosen der Hülsennähte „schwarzbeiniger" Pflanzen

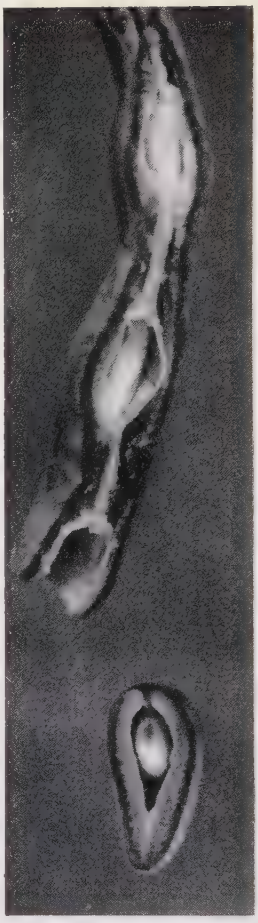


Abb. 6. Nekrosen in Hülsenlängs- und -querschnitt von Pflanzen, die an „Schwarzbeinigkeit" erkrankt waren

Nekrosen ist durch mehrjährige Untersuchungen eindeutig erwiesen. Niemals wurden welkekranke Pflanzen angetroffen, bei denen keine Nekrosen nachzuweisen waren, und auch der umgekehrte Fall wurde nicht festgestellt. Ihr Vorhandensein war stets schon makroskopisch feststellbar. Bei den älteren Hülsen waren Bauch- und Rückennähte, seltener nur eine derselben, dunkel verfärbt, während jüngere Hülsen meist vorzeitig schrumpften und hart und brüchig wurden. Nicht selten war am Haupttrieb eine einseitige Verfärbung zu beobachten, die in der Regel den auf der abgewandten Seite inserierten Hülsen eine Ausreife gestattete, weil das Absterben in derartigen Fällen nur einseitig erfolgte. Es sind auch Fälle beobachtet worden, wo die einseitige Verfärbung an einem Nodium auf die entgegengesetzte Seite überwanderte. In Stengelquerschnitten erstreckten sich die Verfärbungen in den Frühstadien der Erkrankung auf das jüngste Phloem und Xylem, später drangen sie tief bis an das Xylem und nicht selten bis in das Mark vor. Im oberen Stengelteil reichten die Nekrosen meist nicht sehr tief in das Xylem. Ihr Auftreten führte zu einer mechanischen „Blockierung" des Wurzelsystems und unterband bzw. beschränkte die Wasserzuführung in einer Zeit, in der der Wasserbedarf der Pflanze besonders groß ist. An den Blättern wurden von uns keine krankhaften Veränderungen festgestellt.

Anatomische Untersuchungen an gesunden und kranken Hülsen

Eingehender haben wir uns mit den Hülsennekrosen befaßt. Die an der kranken Hülse eingetretenen Veränderungen zu schildern, ist ohne Kenntnis der Anatomie der gesunden Hülse nicht möglich. Besonderes In-

teresse wurde dabei der Bauch- und Rückennaht gewidmet, da dort die krankhaften Veränderungen am auffälligsten waren. Alle Untersuchungen wurden an der Stangenbohnensorte „Juli" durchgeführt. Ein Querschnitt durch die Bauchnaht der gesunden Hülse und das ihr unmittelbar benachbarte Hülsengewebe (Abb. 7) ließ zunächst erkennen, daß die Epidermis beiderseits der Naht aus je etwa 50 Zellen mit auffallend stark verdickten Außenwänden besteht. Diese Zellen gehen, sich von der Bauchnaht entfernend, allmählich in normal gebaute Epidermiszellen über. Darunter befindet sich eine, sich ebensoweit nach beiden Seiten der Naht erstreckende Schicht auffallend radial gestreckter Zellen mit allseitig verdickten Wänden. Diese subepidermale Zellschicht wird nach innen von einem reich mit Chloroplasten ausgestatteten Parenchym abgelöst, welches in unmittelbarer Nahtnähe nur drei bis vier Zellen dick ist, nach beiden Seiten jedoch rasch an Mächtigkeit gewinnt. Ein Paar sich anschließender, schwach S-förmig gekrümmter Leitbündelscheiden (vgl. Abb. 7), die aus etwa fünf Zellreihen mit verdickten Wänden versehener, isodiametrischer Zellen bestehen, bieten jedem der rechts und links der Bauchnaht gelegenen Leitbündel Schutz nach außen. Diese Bündel liegen in einem farblosen, d. h. nicht chlorophyllführenden Innenparenchym (Mark), welches im Zentrum die atrope Samenanlage einschließt.

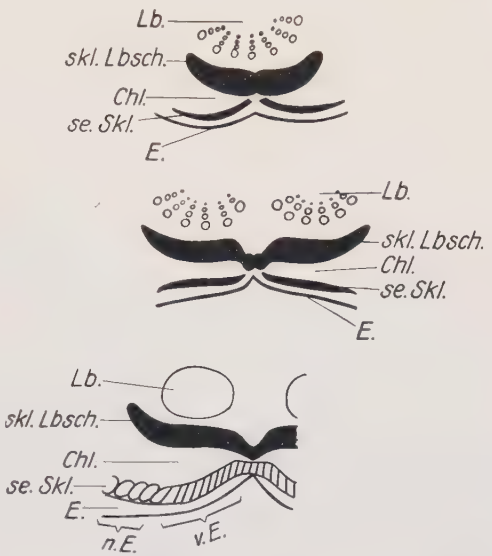


Abb. 7. Schematische Übersichtsbilder der Anatomie der Rückennaht (oben) und der Bauchnaht (Mitte und unten) der Bohnenhülse (Sorte „Juli")

Lb. = Leitbündel; skl. Lbsch. = sklerenchymatische Leitbündelscheide; Chl. = „Chlorenchym"; se. Skl = subepidermales Sklerenchym; E. = Epidermis; n. E. = normale Epidermis; v. E. = Epidermis mit verdickten Außenwänden

Entfernt man den „Faden" der Hülse, der sich an der Bauchnaht entlangzieht, so bleiben allein die rechts und links der Naht befindlichen Leitbündel zurück, alle übrigen Gewebe, wie Epidermis, subepidermale Schicht radial gestreckter Zellen, „Chlorenchym" und zuletzt die Leitbündelscheide, werden mit dem Abziehen des Fadens entfernt. Ähnliche Verhältnisse herrschen an der Rückennaht der Frucht. Hier verschmelzen jedoch die beiden an der Bauchnaht S-förmig gekrümmten Leitbündelscheiden zu einem kompakten, ± halbmondförmigen Gewebekomplex, der nur ein großes Leitbündel umschließt (Abb. 7).

Einen bedeutend einfacheren Bau weisen die Breitseiten der Bohnenhülsen auf (Abb. 8). Auf eine typische Epidermis folgt ein etwa zwölf Zelllagen starkes, chlorophyllführendes Parenchym, das in seinen Außenschichten heller grün gefärbt ist als innen. Zwei bis drei Reihen tangential stark ge-

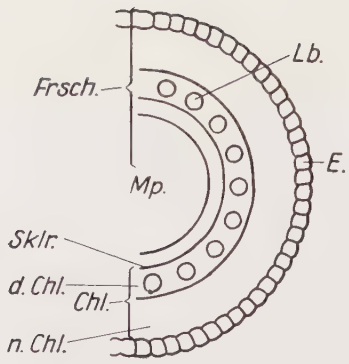


Abb. 8. Anatomie der Hülsenbreitseite (schematisch)

Frsch. = Fruchtschale; Lb. = Leitbündel; Mp. = Markparenchym; E. = Epidermis; Sklr. = Sklerenchymring; Chl. = „Chlorenchym"; d. Chl. = dunkelgrün gefärbtes „Chlorenchym"; h. Chl. = hellgrün gefärbtes „Chlorenchym"

streckter Zellen grenzen dieses „Chlorenchym" scharf gegen das zuinnerst liegende Markparenchym ab.

Die über die Breitseiten der Hülse gleichmäßig verteilten, zahlreichen Leitbündel liegen ziemlich peripher, jedoch im inneren, dunkler gefärbten Teil des „Chlorenchym"-Ringes. Im Gegensatz zu den unter der Bauch- und Rückennaht befindlichen Bündeln sind diese in ihrem histologischen Gefüge stark reduziert und bestehen zumeist aus nur zwei bis vier Gefäßen.

Bei der kranken Hülse fallen auf Hülsenquerschnitten bereits makroskopisch die krankhaft veränderten, gebräunten Gewebekomplexe ins Auge. Ein großer T-förmiger Fleck befindet sich unter der Bauchnaht. Sich gabelnd, setzt er sich bis in die Samenanlage fort. Ein weiterer großer Fleck liegt jenem T-förmigen gegenüber, er verläuft parallel zur Rückennaht der Hülse. Zahlreiche kleinere verbräunte Areale befinden sich dicht unter der Epidermis der Hülsenbreitseiten, wobei der zwischen zwei Flecken stets regelmäßige Abstand besonders auffällt. Ist die Krankheit schon weiter fortgeschritten, so können sich diese braunen Flecke zu einem geschlossenen nekrotischen Ring vereinigen.

Mikroskopisch erkennt man sodann, daß das auf Querschnitten links und rechts der Bauchnaht liegende, von der Leitbündelscheide nach außen abgeschirmte Leitbündel zahlreiche nekrotische Herde aufweist.

Während die leitenden Elemente des Phloems nicht selten nesterweise von braun gefärbten, amorphen Massen verstopft sind, weisen die Gefäße des Xylems intensiv gebräunte Wände und Lumina auf. Die Bräunung erstreckt sich tangential nach beiden Seiten noch ein Stück über das Bündel, jedoch nicht über die Leitbündelscheide hinaus, erfaßt aber gelegentlich auch einige Zellen der letzteren. Auch das nach innen, in radialer Richtung zur Samenanlage ziehende, sich später im Ovulum gabelnde Leitbündel ist verbräunt, und zwar auf gleiche Weise wie die beiden vertikal verlaufenden Stränge. Dieser sich in radialer Richtung erstreckende nekrotische Strang ist es, der, zusammen mit dem verbräunten, tangentialen Zellkomplex, den bereits erwähnten, makroskopisch sichtbaren, braunen T-förmigen Fleck unter der Bauchnaht bildet. Das Krankheitsbild unter der Rückennaht der Hülse bietet demgegenüber nichts grundsätzlich Neues. Haben wir es hier mit nur einem über der Leitbündelscheide liegenden Leitbündel zu tun, so sind die Wände vieler Gefäße und einige Zellen der Scheide sowie einzelne Phloemzellen auch hier verbräunt bzw. von einer strukturlosen, braunen Substanz angefüllt.

Querschnitte durch die Hülsenseitenwand (Breitseite) lassen schließlich erkennen, daß sich die zahlreichen kleinen, schon mit bloßem Auge sicht-

baren verbräunten Areale im dunkleren, d. h. innersten Teil des „Chlorenchym"-Ringes befinden, wo auch die Leitbündel verlaufen. Es fällt auf, daß die im Gefolge der Krankheit entstehenden nekrotischen Herde immer nur in unmittelbarer Nähe der Leitbündel anzutreffen sind. Das geht auch aus den an der noch jugendlichen Samenanlage gemachten Befunden kranker Hülsen, auf die schon einmal hingewiesen wurde, hervor (vgl. Abb. 9): nicht nur der an der Chalaza in das Ovulum eindringende Leistrang ist verbräunt, sondern auch zwei von diesem gabelig ausgehende „Seitenstränge", die im Nucellus beiderseits des Embryosackes unter den Integumenten verlaufen, sind anfangs kräftig, mit wachsender Entfernung von der Chalaza immer weniger stark braun verfärbt. Diese Tatsache gab den Anlaß, einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Leitgewebe einerseits und der Nekrotisierung andererseits anzunehmen.

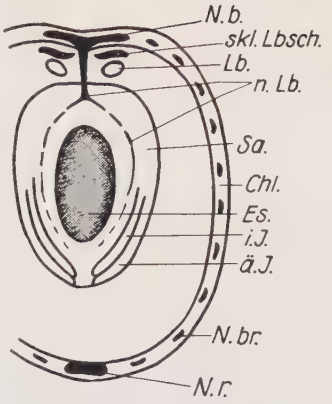


Abb. 9. Hülsenquerschnitt erkrankter Bohne

N. b. = Nekrosen der Bauchnaht; skl. Lbsch. = sklerenchymatische Leitbündelscheide; Lb. = Leitbündel; n. Lb. = nekrotisches Leitbündel; Sa. = Samen; Chl. = „Chlorenchym"; Es. = Embryosack; i.I. = inneres Integument; ä.I. = äußeres Integument; N. br. = Nekrosen der Hülsenbreitseite; N. r. = Nekrosen der Rückennaht

Nachdem unter der Bauch- und Rückennaht der Frucht die Wände der subepidermalen Schicht radial gestreckter Zellen und die der Leitbündelscheide auf Phloroglucin-Salzsäure ebenso mit intensiver Rotviolettfärbung reagierten wie die Wände der Tracheen und Tracheiden, konnten sie als verholzt angesehen und damit diese Gewebe als Sklerenchymschichten bzw. -scheiden bezeichnet werden (Abb. 7). Alle unter dem Einfluß der Krankheit verbräunten Gewebe ändern dagegen nach Zusatz von Phloroglucin-Salzsäure diese Farbe nicht ab.

Auf der Suche nach der Natur der braunen, die Zellwände und auch das Plasma durchsetzenden Substanz wurden vor allem Reagenzien auf Gummi, Wundgummi, Harze und Gerbstoffe verwendet. Die die Siebzellen des Phloems häufig ausfüllenden braunen Substanzen waren in Wasser weder löslich noch quellbar, auch trat in Orcin-Salzsäure keine Violett- oder Braunfärbung derselben ein (Molisch, 1923). Es handelt sich also nicht um gummiartige Substanzen.

Obgleich die nekrotische Substanz in Eau de Javelle (KOCl) löslich und in konz. H_2SO_4 unlöslich ist, kann sie nicht als Wundgummi bezeichnet werden, da sie, in Wasser unlöslich und unquellbar, nicht die für Phloroglucin-Salzsäure charakteristische Rotfärbung ergab (Temme, 1883) und sich in 10 % $CuSO_4$ + 10 % KOH nicht tiefviolett färbte (Behr, 1949).

Ebenso mißlangen Versuche, die braune Substanz als Harz zu identifizieren. Sie war auch nach 20 Stunden weder in absolutem Alkohol noch in Äther, Benzol, Chloralhydrat oder Schwefelkohlenstoff löslich, in kaltgesättigtem Kupferazetat trat keine smaragdgrüne Färbung ein (Molisch, 1923; Schneider und Zimmermann, 1922). Erfolgreicher verliefen die weite-

ren Untersuchungen, die den Nachweis von Gerbstoffen erbringen sollten. Wurden durch krankes Hülsengewebe geführte Schnitte auf dem Objektträger in einer kaltgesättigten Ferrisulfatlösung erwärmt, so färbten sich die verbräunten Gewebe tief schwarzblau bis schwarz, die sklerenchymatische Leitbündelscheide und die Gefäßwände blieben dabei unverändert. Ähnlich verlief die Reaktion in Ferrichlorid, wo jedoch der Umschlag nach tiefschwarzgrün eintrat (STRASBURGER, 1902).

Lieferte die Ammoniummolybdatprobe keinen gelben bis braunen Niederschlag (MEYER, 1939), so trat drei Tage nach dem Einlegen der Gewebestücke in eine kaltgesättigte, wäßrige Kaliumbichromatlösung eine deutliche Veränderung ein: die ursprünglich braunen, nekrotischen Zellnester färbten sich tief dunkelbraun bis fast schwarz. In Anthocyan übertragen (wäßrig; aus *Antirrhinum*-Blüten hergestellt), war nach zwei Tagen eine Dunkelviolett-Färbung der nekrotischen Substanzen eingetreten (TUNMANN und ROSENTHALER, 1931).

Diesen — mit Ausnahme der Ammoniummolybdatprobe — positiv ausgefallenen Gerbstoffreaktionen soll schließlich noch die Jodprobe nach SPERLICH (1917) hinzugefügt werden: 18 bis 20 Stunden nach Einlegen der Schnitte in Jod wurden alle krankhaft veränderten, d. h. unter dem Einfluß der Nekrose hellbraun tingierten, sowie alle verholzten Gewebe leuchtend goldgelb gefärbt. Eine Differenzierung in absolutem Alkohol entfärbte die sklerenchymatischen Gewebe total, nur die Leitbündelscheiden der Hülsenbauch- und -rückennaht zeigten eine schwach blaßgelbe Tönung. Die als Folge der Krankheit entstandenen Zellen sowie die die Zellwände durchsetzenden, gebräunten Substanzen nahmen hingegen einen tief schwarzbraunen Farbton an.

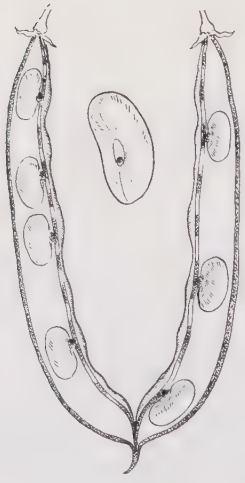


Abb. 10. Verlauf der Nekrosen in einer aufgeklappten Hülse einer „schwarzbeinigen" Pflanze. An der Schraffur ist zu erkennen, daß teilweise eine Unterbrechung der Nekrosen zu beobachten ist. In der Mitte Same einer kranken Pflanze, im vorliegenden Fall durch eine nekrotische Verfärbung am Nabel kenntlich

Nachdem eine Identifizierung der braunen Substanzen als Gummi, Wundgummi und Harz auf mikrochemischem Wege nicht gelungen war, muß auf Grund der zuletzt geschilderten, insbesondere derjenigen mit Gerbstoffreagenzien durchgeführten Versuche geschlossen werden, daß die im Verlauf der Erkrankung entstandenen gebräunten Reaktionsprodukte der Bohnenhülse zu Substitutions- bzw. Oxydationsprodukten von Gerbstoffen zu zählen sind. Sie färben das Plasma der ursprünglich lebenden Siebelemente braun, bewirken dessen Denaturierung und dringen unter Verbräunung der Zellwände auch in diese ein. Daß die Gerbstoffe die Zellwand imprägnieren, konnte durch folgenden Versuch gezeigt werden: wurden Schnitte in KOCl überführt, so entfärbten sie sich, da sich die braunen, Plasma und verholzte Zellwände durchsetzenden Reaktionsprodukte in diesem Reagens lösen. Nach

Zusatz von Jodschwefelsäure färbte sich das Zellulosegerüst violett, alle verholzten und ursprünglich krankhaft verbräunten Elemente nahmen jetzt (unter dem Einfluß des Jod) einen leuchtend-goldgelben Farbton an. Sie ließen damit erkennen, daß das Ligningerüst erhalten geblieben war, die braunen, als Substanzen mit Gerbstoffcharakter identifizierten Reaktionsprodukte jedoch mittels KOCl aus diesem herauszulösen sind.

Aetiologie der Erkrankung

Die Gefäßverfärbungen können durch den Funiculus bis in den Samen verfolgt werden. Sind Pflanze bzw. Hülse nicht zu stark geschädigt, so können keimfähige Samen ausreifen. Auf weißen Samenschalen sind dann gelbe Verfärbungen festzustellen, während bei pigmentierten Samenschalen Flecke oder Farbstreifungen zu erkennen sind. Mehrjährige Versuche haben unter Beweis gestellt, daß eine Übertragung der Krankheit durch derartige Samen stattfinden kann. Der Embryo selbst scheint im ruhenden Samen nicht infiziert zu sein. Die Übertragung scheint während der Keimung von der Samenschale aus auf den durchbrechenden Embryo zu erfolgen.

Es ist bekannt, daß Nekrosen zu den charakteristischen Krankheitsmerkmalen einiger Virosen gehören. Nachdem für das Vorliegen einer parasitären Krankheitskomponente keine Anhaltspunkte zu erbringen waren, wurden die Untersuchungen nach dieser Richtung hin ausgedehnt, zumal auch die Tatsache der Samenübertragbarkeit im Sinne einer virösen Erkrankung gedeutet werden konnte.

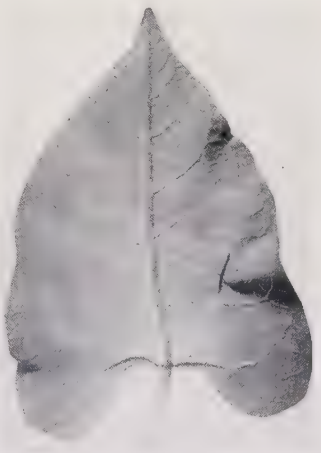


Abb. 11. Adernnekrose bei „Sensation Refugee 1066" nach Saugen einer Blattlaus, die den „Burkholder - Stamm" des gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus übertrug (nach Grogan und Walker)

Bei Infektion durch Nadelstiche gelang es, die ersten Anhaltspunkte für das Vorliegen eines virösen Prinzips zu erbringen. Mit einer feinen Insektennadel wurden die Hauptblattadern durch Einstiche infiziert. Für den Versuch wurden Pflanzen der Buschbohnensorte „Bernburger Schwarze" verwendet, bei der spontaner Befall der „Schwarzbeinigkeit" im Freiland beobachtet worden war. Die Insektennadel wurde vor dem Einstechen in Preßsaft bohnenmosaikkranker Pflanzen getaucht. Infiziert wurden elf Pflanzen, als Kontrolle dienten fünf Pflanzen, auf die gleiche Weise mit Wasser „infiziert". Anschließend wurden die Pflanzen 24 Stunden (18. Juli 1949) unter Glocken feucht gehalten. Nach Ablauf einer Woche zeigte sich, daß die Einstichstellen bei den Kontrollen kaum sichtbar vernarbt waren, während bei den mit infektiösem Preßsaft infizierten Pflanzen die Einstichstellen vergrößert und

nekrotisch verbräunt waren. In mikroskopischen Schnitten war nachzuweisen, daß bei den Wasserkontrollen die Einstichstellen gegen das übrige Gewebe durch Wundkorkbildung abgegrenzt waren. Bei den Pflanzen, die mit dem Bohnenmosaikvirus infiziert wurden, war das Gewebe an den Einstichstellen nekrotisch, und auch die angrenzenden Zellkomplexe waren ganz oder teilweise verbräunt. Die Sorte „Bernburger Schwarze" reagiert demnach hypersensibel auf das Bohnenmosaikvirus, wie auch bei Wiederholung der Versuche stets zu beobachten war.

Weitere Versuche wurden mit Pflanzenpreßsäften durchgeführt, die von „schwarzbeinigen" Pflanzen stammten (Sorte: „Granda Wax × Saxa Gold", Herkunft Quedlinburg). In allen Fällen wurde das gleiche Ergebnis wie bei Infektion mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus erzielt. Die Ausdehnung dieser Versuche auf eine Reihe weiterer Buschbohnensorten führte zu gleichsinnigen Ergebnissen, wie aus nachstehender Tabelle entnommen werden kann.

Nadelstichinfektionen mit Preßsäften von Pflanzen, die unter Symptomen der „Schwarzbeinigkeit" erkrankt waren

Tag der Infektion	Sorte	Infektionsart	Pflanzenzahl	ohne Symptome	lokale Blattnekrosen
25. 7.	Saxa	Wasser	6	6	—
	„	Preßsaft	7	—	7
	Doppelte holländische Prinzeß	Wasser	6	6	—
		Preßsaft	7	—	7
11. 8.	Konserva	Wasser	10	10	—
	„	Preßsaft	10	—	10
	Saxa	Wasser	10	10	—
	„	Preßsaft	10	—	10
	Doppelte holländische Prinzeß	Wasser	10	10	—
		Preßsaft	10	—	10
16. 8.	Juli	Wasser	10	10	—
	„	Preßsaft	10	—	10
	Doppelte holländische Prinzeß	Wasser	15	15	—
		Preßsaft	15	—	15
22. 8.	Juli	Wasser	16	16	—
	„	Preßsaft	24	—	24
	Doppelte holländische Prinzeß	Wasser	16	16	—
		Preßsaft	24	—	24

Als wesentliches Ergebnis der Nadelstichinfektionen ist festzuhalten, daß bei Infektionen mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus und mit Preßsäften von Pflanzen, die unter Symptomen der „Schwarzbeinigkeit" erkrankt waren, gleiche Symptombilder resultierten. Damit war die Frage einer Identi-

tät des gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus (*Marmor phaseoli* Holmes) und des Virus der „Schwarzbeinigkeit" in den Bereich der Möglichkeit gerückt, aber noch keineswegs unter Beweis gestellt.

Um diese Frage experimentell zu klären, wurde die Methode der „Nachbarschaftspfropfung" benutzt. In den gleichen Blumentopf (Topfgröße: 9 cm Durchmesser) wurden je ein Same zwei verschiedener Sorten ausgelegt. Die eine Sorte hatte im Freiland spontanen Befall der „Schwarzbeinigkeit" aufgewiesen, während bei der zweiten Sorte ein derartiges Krankheitsbild bisher nicht festgestellt worden war. Nach erfolgter Ausbildung der Primärblätter wurden die Stengel an einander entsprechenden Stellen oberflächlich verwundet, danach miteinander in Berührung gebracht und durch Bast zusammengehalten („Nachbarschaftspfropfung"). Durch Anwendung dieser Methodik ist die Möglichkeit gegeben, daß von einer virusinfizierten Pflanze aus der Übergang des betreffenden Virus auf die zweite, nicht infizierte Pflanze erfolgen kann.

Die zweite Sorte, durch das Virus der „Schwarzbeinigkeit" im Freiland bisher nicht spontan befallen, wurde mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus infiziert, in der Erwartung, daß das Bohnenmosaikvirus dann auf die erste, für die „Schwarzbeinigkeit" anfällige Sorte übergehen würde. Es sollte durch die Versuchsanordnung geklärt werden, welche Reaktion das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus bei seinem Übergang auf den „prädisponierten Wirt" der „Schwarzbeinigkeit" auslöst. Als Vertreter dieser Gruppe wurde die Sorte „Mombacher" benutzt, der Partner für die „Nachbarschaftspfropfung" war „Konserva". Nach einem orientierenden Versuch wurden ältere Pflanzen der Sorte „Mombacher" zurückgeschnitten und mit vom Freiland entnommenen Pflanzen (Sorte „Konserva") „zusammengepfropft". Wenige Tage danach starben die Pflanzen der Sorte „Mombacher" unter Welkeerscheinungen ab, während bei der Sorte „Konserva" außer den bereits vorhandenen Symptomen des Bohnenmosaiks keine zusätzlichen Krankheitserscheinungen festzustellen waren. In anschließenden Versuchsreihen wurden Samen, die in Petrischalen ausgelegt worden waren, nach erfolgter Keimung in Blumentöpfe ausgelegt. Nachbarschaftspfropfungen erfolgten, nachdem die Pflanzen angewachsen waren, zwischen den Partnern „Konserva" und „Mombacher" (K + M) bezw. „Konserva" und „Bernburger Schwarze" (K + BS), wobei die letztgenannte Sorte ebenfalls Spontanbefall der „Schwarzbeinigkeit" gezeigt hatte. Fünf Tage nach erfolgter Pfropfung (21. Juni) wurde die „Konserva"-Pflanze mit Preßsaft von bohnenmosaikkranken Pflanzen in üblicher Weise infiziert. Zur Erhöhung der Infektionsrate wurde, an Stelle von Karborund, Hohenbockaer Quarzsand benutzt. Der Versuch umfaßte fünf Pflanzen „K + M", acht Pflanzen „K + BS" und fünf Kontrollen. In der Kombination „K + BS" wiesen am 13. Juli drei Pflanzen, bis zum 28. Juli sieben Pflanzen der Sorte „Bernburger Schwarze" die typischen Welkesymptome der „Schwarzbeinigkeit" auf, während die korrespondierenden Pflanzen der Sorte „Konserva" die typischen Erscheinungen des Bohnenmosaiks aufwiesen. Im vorliegenden Versuch ist es demnach gelungen, durch „Nachbarschaftspfrop-

Abb. 12. „Nachbarschaftspfropfung" mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus. Links: Pflanze der Sorte „Stringlees Green Refugee", geimpft mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus und Symptomen des Bohnenmosaiks.
Rechts: Pflanze der Sorte „Sensation Refugee" mit Symptomen der „Schwarzbeinigkeit" als Folge der „Nachbarschaftspfropfung"
(nach GROGAN und WALKER)

fung" eines bohnenmosaikinfizierten Partners mit einem „prädisponierten Partner" charakteristische Symptome der „Schwarzbeinigkeit" bei letzterem auszulösen. Diese Reaktion ist als Hypersensibilität für das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus zu deuten. In der Kombination „K + M" gingen die Pflanzen der Sorte „Mombacher" nach wenigen Tagen ein, da diese Sorte die hier angewandte Methode des Pfropfens nicht zu vertragen schien.

In Fortführung und Ergänzung dieser Versuche wurden noch mehrere hundert „Nachbarschaftspfropfungen" ausgeführt. Es konnte dabei festgestellt werden, daß diese Infektionsmethode die Übertragung des Bohnenmosaikvirus von einem Partner auf einen zweiten ermöglicht. Das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus ruft hierbei auf dem zweiten, „prädisponierten Partner" Gefäßnekrosen und Welkeerscheinungen hervor, wie sie für das Krankheitsbild der „Schwarzbeinigkeit" charakteristisch sind. Es ist in diesem Zusammenhang hervorzuheben, daß die Infektionsrate des zweiten Partners sehr gering ist. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, daß nur bei genügend hohen und auch gleichmäßigen Temperaturen mit dem Zustandekommen des charakteristischen Krankheitsbildes der „Schwarzbeinigkeit" gerechnet werden kann. Diese Verhältnisse waren in unseren Versuchen in den Spätsommer- bzw. Herbstmonaten nur selten realisiert.

Symptomatologie, Samenübertragbarkeit und die Art des Übertragungsmodus lassen es sicher erscheinen, daß die Schwarzbeinigkeit der *Phaseolus*-Arten mit einer Viruskrankheit bei *Phaseolus vulgaris* L. identisch ist, die JENKINS (1940, 1941) an einer größeren Zahl von Buschbohnensorten in Georgia (USA) feststellte und der er die Bezeichnung „Black root" gab. Auch an Limabohnen (*P. lunatus* L.) konnte das gleiche Krankheitsbild beobachtet werden. Lediglich die von ihm beschriebene schwache Mosaikbildung auf den Blättern war in unserem Fall nicht festzustellen. In seinen Versuchen gelang die Virusübertragung durch hypodermale Injektionen mit Preßsaft gerade erkrankter Hülsen. In einem einzigen Fall ergaben sich Anhaltspunkte dafür, daß *Lygus pratensis* L. (*Hemipt., Heteropt.*) als Vektor fungieren kann, jedoch bedarf diese Feststellung erneuter Bestätigung. ZAUMEYER und THOMAS (1948)

stellten das Auftreten der „Schwarzbeinigkeit" bei Sorten fest, die gegen das Bohnenmosaikvirus widerstandsfähig sind und mechanisch mit einem heute als „Shiny pod" bzw. früher als „Greasy pod" bezeichneten Stamm des Bohnenmosaikvirus infiziert worden waren. Dieser Stamm ist mit dem für das Auftreten der „Schwarzbeinigkeit" verantwortlichen Virus identisch. Bei Infektionen mit dem „Shiny pod"-Virus trat bei Sorten wie z. B. „Idaho Refugee", „Logan" und „Rival", deren Resistenz gegen das Virus des gewöhnlichen Bohnenmosaiks durch Resistenzgene der Sorte „Corbett Refugee" bedingt ist, das typische Bild der „Schwarzbeinigkeit" auf. Zur gleichen Sortengruppe gehören weiterhin die Sorten „Wisconsin Refugee", „Sensation Refugee 1066 und 1071", „U. S. No. 5 Refugee" und „Florida Belle". Es liegt hier demnach eine Hypersensibilität gegen den genannten Stamm des Bohnenmosaikvirus vor. Im Gegensatz hierzu bewahren andere mosaikresistente Sorten, wie z. B. „Great Northern 15" und „123" und „Red Mexican 3" und „34", bei Infektionen mit dem „Shiny pod"-Virus ihre Widerstandsfähigkeit. Die Resistenz dieser Sorten bzw. Sortengruppe leitet sich von der Sorte „Great Northern 1" ab. Auch die mosaikresistente Sorte „Robust", die nicht der vorgenannten Gruppe angehört, reagiert negativ. Gewisse Stangenbohnen, wie z. B. „Kentucky Wonder" und „Blue Lake", lassen bei Infektionen mit dem „Shiny pod"-Virus die Symptome der „Schwarzbeinigkeit" in Erscheinung treten. Die Hypersensibilitätsreaktion bei Infektion mit diesem Virusstamm, als die die „Schwarzbeinigkeit" hier aufzufassen ist, tritt demnach nur bei bestimmten mosaikresistenten Sorten auf, während die dem „Shiny pod" selbst entsprechenden Symptome, die nicht den Charakter einer Überempfindlichkeitsreaktion zeigen, nur bei mosaikanfälligen Sorten ausgebildet werden.

Abb. 13. Pflanze der Sorte „Sensation Refugee 1066" (links) bei „Nachbarschaftspfropfung". Nach Entfernung der Epidermis werden typische Nekrosen der „Schwarzbeinigkeit" als Folge der Infektion mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus sichtbar (nach Grogan und Walker)

Grogan und Walker (1948) kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie konnten das Bild der „Schwarzbeinigkeit" bei jungen Pflanzen, ebenso bei solchen, die bereits Hülsen angesetzt hatten, durch „Nachbarschaftspfropfungen" bohnenmosaikresistenter und -anfälliger Sorten experimentell erzeugen, wobei die anfällige Sorte nach erfolgter „Pfropfvereinigung" infiziert wurde. Sie betrachten dies, sofern das Bohnenmosaikvirus aus der anfälligen Sorte in das Phloem der resistenten Sorte gelangt und bei dieser das Krankheitsbild der „Schwarzbeinigkeit" auslöst, als eine Hypersensibilitätsreaktion. In ihren

Versuchen reagierten bei Infektion mit dem „Greasy pod"-Stamm des Bohnenmosaikvirus alle Sorten, deren Resistenz auf „Corbett Refugee" zurückgeht, mit der Nekrosereaktion, während Sorten mit genetisch unterschiedlich bedingter Resistenz („Robust", „Michelite") keine Reaktion zeigten. Ihre Vorstellung einer Hypersensibilitätsreaktion begründen sie auf Übertragungsversuche mit *Myzodes persicae* Sulz., wobei nach erfolgtem Saugen infizierter Pfirsichblattläuse lokal begrenzte Nekrosen auftraten, die eine Inaktivierung des Virus bedingten. Nur in relativ seltenen Fällen wird daher bei Infektionen im Freiland einer Nekrose das typische Bild der „Schwarzbeinigkeit" folgen. Bei Nachbarschaftspfropfungen, ebenso bei hypodermalen Injektionen, sind die Möglichkeiten für das Zustandekommen einer systemischen Infektion wesentlich größer. Die Nekrosereaktion tritt auch bei den Sorten „Michelite" und „Great Northern U. I. 15" ein, die beide anfällig gegen den „Burkholder"-Stamm des Bohnenmosaikvirus sind, unterbleibt jedoch bei Infektion mit dem gewöhnlichen Bohnenmosaikvirus bzw. dem „Shiny pod"-Stamm. Die Hypersensibilitätsreaktion gegen das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus kann hier nicht als Erklärung herangezogen werden, ebensowenig wie beim Zustandekommen der „Schwarzbeinigkeit" bei den mosaikanfälligen Sorten „Kentucky Wonder" und „Black Valentine".

Eingangs wurde bereits betont, daß das Zustandekommen der Hypersensibilitätsreaktion und die systemische Infektion in starkem Maße temperaturabhängig sind. Dies steht in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von GROGAN und WALKER (1948), die nachwiesen, daß bei Temperaturen unter 20 ° C nur selten ein Absterben erfolgt. Ähnliche Feststellungen sind auch für andere Viren bekannt. Nach HUTTON (1948) ist das Ausmaß der Hypersensibilitätsreaktion gegenüber stärker virulenten Stämmen des X-Virus ebenfalls von der Temperatur abhängig. Es sind hier Stämme bekannt, die im Sommer bei Infektion bestimmter Kartoffelsorten eine intensive Reaktion auslösen, so daß die Infektion lokalisiert bleibt, während die Impfung im Winter (im Gewächshaus) zu einer systemischen Infektion Veranlassung gibt. Ganz analoge Erscheinungen werden durch das Virus der Bronzefleckenkrankheit der Tomate hervorgerufen. Je nach Wirt-Virus-Kombination kommt es ebenfalls zu einer mehr oder minder wirksamen Blockierung des Virus (NORRIS, 1951).

BRIDGMON und WALKER (1951) haben nachgewiesen, daß gleichsinnige Nekrosereaktionen bei Nachbarschaftspfropfungen auch durch das Virus des südlichen Bohnenmosaiks (*Marmor laesiofaciens* Zaumeyer et Harter) ausgelöst werden können. Das Zustandekommen der „Schwarzbeinigkeit" scheint hier auf diejenigen Sorten beschränkt zu sein, die bei mechanischer Abreibung mit nekrotischen Lokalläsionen reagieren. Die durch das südliche Bohnenmosaikvirus ausgelösten, rötlichbraunen bis schwarzen Nekrosen sind etwas schwächer als die grauen bis schwarzen Nekrosen des Bohnenmosaikvirus.

Zusammenfassung

1. Im Jahre 1948 wurde in Mitteldeutschland bei Stangenbohnen, vereinzelt auch an Buschbohnen, eine Krankheit beobachtet, deren auffälligstes Symptom zur Zeit der „Grünreife" der Hülsen in einem schlagartigen Einsetzen einer oft totalen Welke besteht.

2. Die Wurzeln und der basale Teil des Hypokotyls waren schwarz verfärbt („Schwarzbeinigkeit"). Charakteristisch ist das Auftreten von Nekrosen im Wurzelinnern, in Haupt- und Nebentrieben, in den Hülsen und zuletzt auch in den Blattstielen.

3. Das Auftreten der Krankheit ist auf bestimmte Sorten beschränkt. Werden diese Sorten bei Kreuzungen als Elter benutzt, so ist auch hier meist mit einer Anfälligkeit für diese Krankheit zu rechnen.

4. Durch mikrochemische Untersuchungen an den Hülsen kranker Pflanzen konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die im Verlauf der Krankheit entstandenen nekrotischen Reaktionsprodukte als Substitutions- bzw. Oxydationsprodukte von Gerbstoffen anzusehen sind.

5. Die Krankheit kann durch den Samen in größeren Prozentsätzen übertragen werden.

6. Nadelstichinfektionen und „Nachbarschaftspfropfungen" führten zum Nachweis der virösen Natur der Erkrankung. Die „Schwarzbeinigkeit" ist als eine Hypersensibilitätsreaktion auf das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus (*Marmor phaseoli* Holmes) anzusehen.

7. Die „Schwarzbeinigkeit" ist mit einer Krankheit identisch, die in den USA als „Black root" bezeichnet worden ist. Eine gleichartige Erkrankung wurde dort auch durch das Virus des südlichen Bohnenmosaiks (*Marmor laesiofaciens* Zaumeyer et Harter) ausgelöst.

Literaturverzeichnis

Behr, L., 1949: Histologische Untersuchungen an krätzekranken Gurken *(Cucumis sativus* L.) unter besonderer Berücksichtigung des Krankheitsverlaufes der Krätze *(Cladosporium cucumerinum* Ell. et Arth.) an Früchten. Phytopath. Ztschr. **15**, 92—123.

Blodgett, E. C. und Schultz, H. K., 1945: Observations on unusual bean disease symptoms. U. S. dep. agric., plant dis. reptr. **29**, 429—432.

Bridgmon, G. H., 1951: Relation of southern bean mosaic to black root. Phytopathology **41**, 5.

— — und Walker, J. C., 1951: The relation of southern bean mosaic to black root. Phytopathology **41**, 865—871.

Grogan, R. G., 1948: The relation of common bean mosaic to black root. Phytopathology **38**, 10—11.

— — und Walker, J. C., 1948: The relation of common mosaic to black root of bean. Journ. agric. res. **77**, 315—331.

Harter, L. L. und Zaumeyer, W. J., 1944: A monographic study of bean diseases and methods for their control. U. S. dep. agric., Techn. Bull. 868.

Hutton, E. M., 1948: The separation of strains from a virus X complex by passage through potato seedlings. Austral. journ. sci. res., ser. B, biol. sci. **1**, 439—451.

Jenkins, W. A., 1940: A new virus disease of snap beans. Journ. agric. res. **60**, 279—288.

— —, 1941: A histological study of snap bean tissues affected with black root. Journ. agric. res. **62**, 683—690.

Klinkowski, M., 1952: Die „Bohnenwelke" der Phaseolus-Arten, die Bronzefleckenkrankheit der Tomate, die Vergilbungskrankheit und das Gelbnetz-Virus der Rüben, Viruskrankheiten, die bisher in Deutschland unbekannt waren. Die dtsch. Landw. **3**, 636—639.

Meyer, G., 1939: Zellphysiologische und anatomische Untersuchungen über die Reaktion der Kartoffelknolle auf den Angriff der *Phytophthora infestans* bei Sorten verschiedener Resistenz. Arb. Biol. Reichsanst. **23**, 97—132.

Molisch, H., 1923: Mikrochemie der Pflanze. 3. Aufl., Jena.

Norris, D. O., 1951: Spotted wilt of potato. I. The field disease and studies of the causal virus. Austral. journ. agric. res. **2**, 221—242.

Schneider, H. und Zimmermann, A., 1922: Die botanische Mikrotechnik. 2. Aufl., Jena.

Sperlich, A., 1917: Jod, ein brauchbares mikrochemisches Reagens für Gerbstoffe, insbesondere zur Darstellung des Zusammenhanges der Verteilung von Gerbstoff und Stärke in pflanzlichen Geweben. Ber. Dtsch. Bot. Ges. **35**, 69—73.

Strasburger, E., 1902: Das botanische Praktikum. 4. Aufl., Jena.

Temme, I.: Zit. nach Schneider, H. und Zimmermann, A.

Thung, T. H., 1950: De ontwikkelingsgang der plantenvirologie. Veenman u. Zonen, Wageningen.

Tunmann, O. und Rosenthaler, L., 1931: Pflanzenmikrochemie. 2. Aufl., Berlin.

Zaumeyer, W. J. und Thomas, H. R., 1948: Shiny pod — (greasy pod) virus and its identity with black root virus. Phytopathology **38**, 29.

Aus dem Institut für Virusforschung der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Celle

Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne *(Vicia faba)*

Von

L. Quantz

Mit 16 Abbildungen

Im Verlauf von Untersuchungen über die Virusarten, die an den in *Vicia faba*-Beständen zu beobachtenden Mosaik- und Kräuselerscheinungen beteiligt sind, wurden im Sommer 1949 von Puffbohnen (*Vicia faba* var. *major*) aus dem südlichen Niedersachsen Virusisolate gewonnen, die von den bisher von Ackerbohne und Puffbohne bekannten Viren deutlich unterschieden waren. Da dieses Virus, wie weitere Beobachtungen in verschiedenen Anbaugebieten zeigten, eine erhebliche Rolle bei den an *Vicia faba* auftretenden Mosaikkrankheiten spielt, wurde es in der Folgezeit näher untersucht (Quantz 1952 a). Das Virus zeichnet sich durch eine deutliche Variabilität aus, die es notwendig machte, die Untersuchung auf mehrere Isolierungen auszudehnen. Für die Verbreitung dieser Krankheit hat die Übertragbarkeit des Virus durch den Samen von *Vicia faba* Bedeutung. Hierüber wurde bereits in einer kurzen Mitteilung berichtet (Quantz 1950). Die vorliegende Arbeit gibt eine nähere Darstellung dieses Ackerbohnenmosaikvirus. Da es, wie später zu besprechen sein wird, nicht mit einem der bisher bekannten Viren zu identifizieren ist, wird es als neue Art beschrieben und dafür als vorläufige Arbeitsbezeichnung der Name *Viciavirus varians* vorgeschlagen.

Experimenteller Teil

Herkünfte des untersuchten Virus

Die ersten beiden Isolate EV 11 und EV 14 dieses Virus wurden von Puffbohnen gewonnen. Sie zeigten im Gewächshaus unter sich hinsichtlich der Symptomausprägung gewisse Abweichungen voneinander. In der Folgezeit wurde das Virus noch wiederholt von *Vicia faba,* in einigen Fällen auch von anderen Wirtspflanzen isoliert. Von diesen sehr zahlreichen Abimpfungen des Ackerbohnenmosaikvirus (= AMV) wurden folgende Stämme näher untersucht:

EV 11: Herkunft aus der Umgebung von Einbeck (Südhannover); abgerieben von mosaikkranker Puffbohne Anfang Juli 1949. Typischer, starker Stamm mit kräftigem Kräuselmosaik und Welkesymptomen auf Erbse (vgl. S. 426).

EV 36: Dieses symptomatisch dem Typus EV 11 gleichende Isolat wurde von einer kranken Ackerbohne der Sorte „Friedrichswerther Berg" aus dem Versuchsfeld des Bundessortenamtes in Rethmar bei Hannover am 10. Juli 1950 abgerieben.

EV 100: Der starke, dem Typus entsprechende Stamm wurde von einer Keimpflanze der Puffbohne „Weißkeimige Zwijndrechter" gewonnen, die aus infiziertem Samen im Gewächshaus in Celle mit Kräuselmosaik aufgelaufen war. Isoliert am 21. Februar 1950. Über die an diesem Pflanzenaufwuchs festgestellte Samenübertragung wurde früher berichtet (1950)*).

EV 14: Herkunft Einbeck, Juli 1949. Der Stamm wurde von einer anderen kranken Pflanze des gleichen Puffbohnenbestandes wie EV 11 isoliert und weicht durch fehlende Welkesymptome vom Typ ab.

EV 205: Von einer sameninfizierten Keimpflanze aus einer Parzelle „Strubes Ackerbohnen" in Rethmar am 23. Mai 1951 isoliert. Der Stamm weicht durch allgemein schwächeres Symptombild, geringe Kräuselung und fehlende Welke deutlich vom Typ ab.

EV 11 M: Dieser sehr schwache Mosaikstamm spaltete sich aus den Erhaltungsübertragungen des starken EV 11 am 18. November 1950 ab und blieb seither ohne Welke und Kräuselsymptome (vgl. S. 434).

W 115 u. W 116: Von stark mosaikkranken Süßwicken *(Vicia sativa)* aus Holstein am 3. August 1950 isoliert. Die Wicken waren zur Saatgewinnung im Gemisch mit Ackerbohnen als Stützfrucht angebaut und stark geschädigt (Abb. 13).

E 271: Von kranken Erbsen *(Pisum sativum)* aus der Nähe von Göttingen am 18. Juli 1951 isoliert (Abb. 14).

W 283: Das Isolat wurde am 28. Juli 1951 von virusbefallenen Platterbsen *(Lathyrus tingitanus)* einer Versuchsfeldparzelle bei Celle (Hannover) abgerieben.

Die vorgenannten Stämme wurden durch Saftabreibung auf Testpflanzen, besonders Erbsen, übertragen und auf diesen seither in Kultur gehalten. Hierbei wurde der durch Zerquetschen kranker Pflanzenteile in Porzellanmörsern gewonnene Preßsaft mittels eines flachen Glasspatels auf junge Blätter verrieben, die zur Erhöhung des Infektionserfolges vorher mit feinem Karborundstaub eingepudert waren. Das Gewächshaus war durch Drahtgaze gegen Insekteneinflug abgedichtet und wurde durch regelmäßige Anwendung von Insektiziden blattlausfrei gehalten. Im Verlauf der Untersuchungen wurde die Reinheit der untersuchten Virusstämme durch Passagen über Testpflanzen und durch Erhitzungs- und Verdünnungsversuche wiederholt geprüft. Die nachstehenden Versuche erstreckten sich über längere Zeiträume und mußten zu allen Jahreszeiten durchgeführt werden, soweit die Vegetationsbedingungen die Entwicklung der Testpflanzen erlaubten. — Die Photographien von Blattsymptomen wurden meistens im Durchlicht aufgenommen.

Das Krankheitsbild bei Feldinfektionen auf Ackerbohne

Das Symptombild des Ackerbohnenmosaiks auf Freilandpflanzen von *Vicia faba* äußert sich in mosaikartigen Verfärbungen, Blattverformungen und Wuchsstauchungen, die im einzelnen starke Variabilität aufweisen kön-

*) In einem Referat in der Review of Applied Mycology 30 (1951), S. 300, war das in unserer vorläufigen Mitteilung genannte samenübertragbare Virus als Erbsenmosaikvirus (Pea mosaic virus) interpretiert. Das von uns untersuchte Virus ist jedoch mit diesem, wenn auch auf *Vicia faba* vorkommenden Erbsenmosaikvirus nicht identisch.

nen (Abb. 1 a, b). Bei schweren Infektionen bleiben die Blätter klein und stehen infolge oft starker Verkürzung der Stengelinternodien dicht und gestaucht. Die Fiederchen selbst sind klein, beulig gekraust und oft deformiert. Die Färbung der Blätter weist mosaikartige, heller und dunkler grüne Partien auf, wobei die bleichgrünen Areale oft großflächig und bandartig das Blatt überziehen und dunkler grüne, mitunter pockig aufgewölbte Inseln umschließen. Mit zunehmendem Alter des betroffenen Blattes neigen die Kräuselungen dazu, sich auszugleichen, so daß nur noch eine mäßige Wellung der Fiederblätter bleibt, wobei auch die mosaikartigen Blattmuster an Intensität verlieren können. Nicht selten treten indessen auch bleibende und stärkere Fleckzeichnungen mit auffälligen Nekrosen auf. So finden sich die Blattgewebe oft zwischen den Seitenadern streifenartig aufgehellt. Diese mehr oder weniger farblosen Partien bleiben meist dünn und seidenpapierartig transparent, werden oft von braunen Nekrosen begleitet und geben das Bild einer fischgrätenartigen Streifung (Abb. 2). Das Flächenwachstum des Blattes wird hierbei unregelmäßig gehemmt, so daß am Blattrand Kerbungen entstehen. Im Bereich der stärksten Befallszone können gleichfalls braune, strichelartige bis zusammenfließende Verfärbungen des Stengels beobachtet werden, die sich mitunter über die Blattstiele bis auf die Blattadern ausdehnen. Mit fortschreitendem Wachstum der erkrankten Pflanze erholen sich die neu gebildeten Blätter für gewöhnlich wieder. Die Kräuselungen, Blattverkleinerungen und Mosaikzeichnungen lassen nach, so daß die Infektion auf den nächsten Blättern mehr oder minder überwunden zu sein scheint. Abb. 1 a läßt eine solche beginnende Rekonvaleszenz (recovery) der Pflanze zur Triebspitze hin er-

a b

Abb. 1. Ackerbohnen (natürliche Infektionsbilder). a) Starke Infektionszone mit beginnender Erholung. b) Leichteres Befallsbild mit vorübergehend abgeschwächten Symptomen

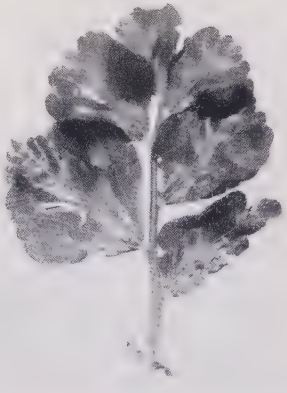


Abb. 2. Ackerbohnenblatt mit transparenten Mosaikstreifen (Feldinfektion)

kennen. Späterhin tragen die höher folgenden Blätter jedoch oft wieder deutlichere Mosaiksymptome. Bei leichteren Krankheitsbildern kommt es im ganzen nur zu einer schwächeren Mosaikzeichnung und Blattwellung (Abb. 1 b). An alten Pflanzen ist die Erkrankung dann oft nur noch schwer zu erkennen.

Derartige eben beschriebene braune Stengelverfärbungen und Blattnekrosen werden im Freiland offenbar auch durch die Gegenwart anderer Viren in Mischinfektionen hervorgerufen bzw. verstärkt. Eine solche Komplexwirkung ließ sich auf Ackerbohne in Gewächshausversuchen beispielsweise mit Infektionsgemischen aus dem Ackerbohnenmosaikvirus und einem dem gewöhnlichen Erbsenmosaik zuzuordnenden Virus erzielen. Ein Auftreten dieser und anderer Mischinfektionen — etwa mit dem scharfen Adernmosaik (*Pisum*-Virus 1) — kann in manchen Fällen in Feldbeständen eine sichere Zuordnung der verschiedenen Symptome erschweren. Bei den dargestellten natürlichen Krankheitsbildern wurde daher die Anwesenheit des AMV durch Abreibungen nachgewiesen.

Der Wirtspflanzenkreis des Ackerbohnenmosaikvirus

Der Wirtspflanzenkreis des AMV wurde wiederholt und mit verschiedenen Isolierungen des Virus im Gewächshaus geprüft. Die Inokulation wurde durch Einreiben jugendlicher Testpflanzen mit dem Preßsaft von infizierten Erbsenpflanzen vorgenommen. Da auf einer Anzahl Wirtspflanzen die Symptome nur schwach oder nur vorübergehend auftraten, wurden in den meisten Fällen Rückimpfungen auf Erbse durchgeführt. Das Ergebnis von Übertragungsversuchen mit einigen starken, von *Vicia faba* stammenden Isolaten vom Typ EV 11 ist in Tabelle 1 zusammengestellt. Von den untersuchten Arten aus mehreren Familien konnten bislang nur Vertreter der Leguminosen (Papilionaceae) aus zehn verschiedenen Gattungen erfolgreich infiziert werden. So waren Preßsaftübertragungen positiv auf den Arten *Cicer arietinum, Lathyrus odoratus, L. tingitanus* (Dieckmanns Platterbse), *Lens esculenta, Lupinus albus, Melilotus albus, Phaseolus vulgaris, Pisum arvense, P. melanocarpum, P. sativum, Trifolium incarnatum, Trigonella coerulea, Vicia faba* var. *minor* und var. *major, V. hirsuta, V. narbonensis, V. pannonica, V. sativa* und *V. villosa*. In den bisherigen Versuchen zeigte sich kein Befall auf: *Lotus corniculatus, Lupinus luteus, Medicago media, Phaseolus coccineus, P. lunatus* var. *macrocarpus, Soja max, Trifolium hybridum* und *Trifolium pratense*. Auf *Trifolium repens* wurde nur in seltenen Fällen auf eingeriebenen Pflanzen eine mosaikähnliche Blattzeichnung angetroffen, jedoch waren wiederholte Versuche einer Rückübertragung von Weißklee auf Erbse bisher erfolglos. Auch auf Rotklee und Schwedenklee konnten trotz gelegentlicher verdächtiger Erscheinungen noch keine Mosaiksymptome nachgewiesen werden, so daß bislang nur der Inkarnatklee sicher anfällig ist. Ohne erkennbare Symptome blieben ferner die getesteten Arten folgender Nichtleguminosen: Solanaceae: *Nicotiana tabacum* (Samsun und White Burley), *Nicotiana glutinosa, Datura stramonium;* Caryophyllaceae: *Stellaria media;* Cucurbitaceae: *Cucumis sativus;* Scrophulariaceae: *Antirrhinum majus;* Chenopodiaceae:

Spinacea oleracea. Für die Versuche mit Nichtleguminosen wurde vorwiegend der Stamm EV 11 verwendet, dabei wurden zwischen 3 bis 19 Pflanzen je Art zur Einreibung herangezogen.

Tabelle 1

Der Wirtspflanzenkreis einiger Herkünfte des AMV von *Vicia faba*

Testpflanzenart	EV 11	EV 36	EV 100
Cicer arietinum	8/9		
Lathyrus odoratus	21/21	7/7	6/6
Lathyrus sativus	5/7		
Lathyrus tingitanus	14/21	6/6	16/19
Lens esculenta	34/36	8/12	2/12
Lotus corniculatus	0/20	0/8	
Lupinus albus[1])	1/37	0/6	0/7
Lupinus luteus	0/9		
Medicago media			0/8
Melilotus albus	6/12	1/15	3/14
Phaseolus coccineus	0/12		
Phaseolus vulgaris[2])	+	2/7	1/8
Phaseolus lunatus v. *macrocarpus*	0/3	0/2	
Pisum arvense	6/9	10/10	7/7
Pisum melanocarpum	6/8		
Pisum sativum Beisaaterbse	15/15	20/20	12/15
„ „ Perfection	14/21	5/5	6/7
Soja max.	0/22	0/5	0/9
Trifolium hybridum	0/40		0/12
Trifolium incarnatum	4/6		3/12
Trifolium pratense	0?/30–)	0/30	0/20
Trifolium repens	3?/35–)		0/15
Trigonella coerulea	2/5		
Vicia faba v. *minor*	70/73	14/16	10/10
Vicia faba v. *major*	11/12		+
Vicia hirsuta	1/3		
Vicia narbonensis	3/4		
Vicia pannonica	12/17	10/16	
Vicia sativa „Engelens (U 28)“	1/35	0/20	
„ „ „Svalövs Süßwicke“	13/14		9/12
Vicia villosa „N. F. G. Krupp“	19/30	12/15	7/15
Vicia villosa v. *glabrescens*	7/10		

Die Zähler geben die Anzahl der manifest erkrankten Pflanzen, die Nenner die Anzahl der inokulierten an. –) = Rückübertragung auf Erbsen negativ.

[1]) Ein anderes Isolat auf *Lupinus albus:* 3/5,

[2]) auf *Phaseolus vulgaris:* 5/5.

Das Symptombild auf verschiedenen Wirtspflanzen im Gewächshaus

Nach Einreiben junger Ackerbohnenpflanzen im Gewächshaus ist das Symptombild nicht weniger wechselnd wie bei Feldpflanzen. Als erstes Anzeichen der gelungenen Infektion tritt etwa sieben bis acht Tage nach der Inokulation eine bleichgrüne, fleckweise oder gleichmäßige Aufhellung des Adernetzes auf dem übernächsten jungen Blatt, mitunter auch eine leichte

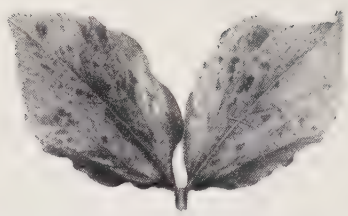


Abb. 3. Ackerbohnenmosaikvirus: Vorstufe mit Adernaufhellung auf Ackerbohne (Gewächshausinfektion)

ringähnliche Fleckung zwischen den Hauptnerven auf. Zwischen den Adern bleiben oft zerstreute, dunkler grüne und vielfach etwas abgerundete Restflecken stehen (Abbildung 3). Die anschließenden Internodien bleiben gestaucht und tragen mehr oder weniger klein bleibende, zuweilen schwarz abtrocknende Blättchen. Auch hier nehmen die folgenden Blätter wieder an Größe zu. Die auf ihnen auftretende Mosaikzeichnung ist oft ungleich — gelegentlich nur auf einzelnen Fiedern des Blattes oder Teilen davon — verteilt (Abb. 4). Die Blattgewebe selbst sind im Bereich der stärker aufgehellten und im Gegenlicht durchscheinenden Areale oft dünner ausgebildet und erscheinen etwas eingesunken, während die normal grünen Partien stärker wachsen und sich daher pockig aufwölben können. Auch nach künstlicher Infektion sind die von Feldpflanzen bereits geschilderten band- und fischgrätenartigen hellen Gewebestreifen anzutreffen. Bei weiterem Wachstum geht die Symptomausprägung auch hier wieder zurück, um nach wenigen fast gesund erscheinenden Blättern wiederum deutlichere Mosaikfleckungen auf den anschließenden Fiederblättchen auftreten zu lassen. Gelegentlich, besonders im Winter, kommt es auch zu einer Nekrose der Triebspitze, die dann unter Welke und Schwärzung eintrocknet. Dem wechselnd ausgeprägten oder „intermittierenden" Symptombild des AMV auf *Vicia faba* kann man das gleichmäßigere, nicht unterbrochene Symptombild des gewöhnlichen Erbsenmosaikvirus auf diesem Wirt als „kontinuierlichen" Typ gegenüberstellen.

Auf Erbsen ruft das AMV bei Verwendung eines virulenten Stammes wie EV 11 ein typisches und starkes Mosaikbild hervor. Die eingeriebenen Fiederblätter welken und trocknen meist vorzeitig ab. Nach etwa acht Tagen erscheint auf dem übernächsten neuen Blatt eine fleckartige oder gleichmäßig blaßgrüne Adernaufhellung. Die folgenden Blätter sind in ihrer

Abb. 4. Mosaikbilder auf Ackerbohne (Gewächshausinfektion), links oben: frühe Vorstufe

Größe reduziert und wellig kraus zusammengefaltet; das stärkst infizierte neigt oft zu raschem Abwelken (Abb. 5 links). Der Stengel ist in dieser Zone gestaucht und trägt vielfach bräunliche bis farblose strichelartige Flecken. Das deutliche, formenreiche Mosaik auf den ersten Fiederblättern (Abb. 5 unten) weist chlorotische bleichgrüne Areale auf, die sich etwa in Gestalt ungleich breiter Bänder und Flecken von der Blattbasis und vom Mittelnerv ausbreiten. Oft liegen die Aufhellungszonen als schmale fischgrätenartige Streifen ähnlich wie bei *Vicia faba* zwischen den Seitenadern, vielfach breiten sie sich auch fächerartig über weite Teile der Lamina aus. Größere oder kleinere dunkelgrüne Restareale werden dabei oft inselartig oder auch ringähnlich eingeschlossen. In den bleichen Partien ist das Adernsystem häufig als feines grünes Gitter erhalten. Die farblosen, fensterartig dünnen Streifen und Flecken haben meist starke Blattkräuselungen zur Folge. Im weiteren Wachstum zeigen die neu entfalteten Blätter an einigen Etagen keine oder nur sehr schwache Symptome, die auf den folgenden Blättern wieder zunehmen und dabei in dieser Phase überwiegend von diffusen, rundlichen, gelbgrünen Blattupfen unterschiedlicher Größe und Intensität bestimmt werden (Abb. 5 oben rechts und 12). Unter den Hülsen konnten solche mit blasig gewölbten und etwas mißbildeten Wänden angetroffen werden. Die Gesamtlänge befallener Erbsenpflanzen bleibt stark hinter den gesunden Kontrollpflanzen zurück. Die Triebspitze kann je nach Jahreszeit und verwendetem Virusstamm (vgl. Seite 430) unterschiedlich leicht und ausgedehnt welken und unter Nekroseerscheinungen abtrocknen (Abb. 5 oben).

Auf Buschbohne (*Phaseolus vulgaris*), z. B. Genfer Markt, Wachs Mont d'or und Tendergreen, wurde ein deutlicher Befall der neu entfalteten Fiederblätter mit zerstreuten gelblich-grünen tupfenartigen Flecken von etwa 1 bis 5 mm ⌀ beobachtet. Diese waren rundlich und verwaschen begrenzt (Abb. 6) und ließen in ihrem Innern gelegentlich schwache bräunliche Nekrosen wahr-

Abb. 5. Gewächshausinfektionen des AMV auf Erbse: links Fiederwelke, oben Spitzenwelke. Übrige: Mosaikbilder verschiedener Stärke

Abb. 6. Buschbohne (Wachs Mont d'or) mit tupfenartigen Symptomen

nehmen. Innerhalb der Flecken trat das feine Adernetz hellgrün hervor und strahlte etwas über den Rand der Flecken aus. Bei stärkerer Ausdehnung der Symptome war die Blattfläche wellig zusammengezogen; auch Fiederverformungen und möglicherweise eine Neigung zu Fiederverwachsungen gingen mit der Infektion einher. Auf den grünen Bohnenhülsen traten in einigen Fällen unregelmäßig eingesunkene, dunkler grüne Flecken auf. Bei manchen Bohnensorten erschienen auf den eingeriebenen Primärblättern rundliche, heller grüne Flecken, seltener feine punktartige, braune Nekrosen.

Gartenwicke (*Lathyrus odoratus*) reagierte auf die Infektion mit starker Wuchshemmung, Stengelstauchung und zum Teil Blatt- und Spitzenwelke, die vielfach zum vorzeitigen Absterben der Pflanzen oder Triebe führte. Die befallenen Blätter zeigten ein grünes Mosaik mit teilweise graugrün aufgehellten Adern. Durch einige Stämme wurden die Blätter sehr stark verkleinert, die Fiederchen blieben klein, kraus eingerollt und zeigten besonders längs der Adern transparente Strichel. An der Basis derartiger Haupttriebe entstanden ebensolche kümmernden Seitentriebe mit eingekrümmten, oft nur pfriemförmigen Blättchen (Abb. 7). Trotzdem auch bei starken Virusstämmen einige Pflanzen sich nach der ersten Reaktion zu erholen schienen und zum Teil mit normaler aussehenden Blättern durchtrieben, blieben erkrankte Pflanzen im Gesamtwuchs meist auffallend gegenüber gesunden Kontrollen zurück. Die farbigen Petalen der zur Entfaltung gelangenden Blüten zeigten eine verwaschene streifige Fleckung. (Neben unbestimmten Sorten wurden besonders die Wikken-Varietäten Austin Frederick und Hawlmark Salmon Pink herangezogen.)

Abb. 7. Gartenwicke: links gesunde Kontrollen, rechts: infizierte Pflanzen

Auf den Fiederblättern von *Melilotus albus* entstanden oft unter Kräuselung ungleich verteilte Adernfleckungen und hellgrüne bandartige Zeichnungen von nicht selten ringähnlicher Gestalt (Abb. 8), die an älteren Blättern gelegentlich graubraun ausbleichten oder nekrotisch eintrockneten. Zeitweise trat auch eine Maskierung der Symptome ein. Eine ähnliche Mosaikzeichnung konnte bei einigen Isolierungen auch auf *Melilotus officinalis* beobachtet werden.

Auf *Lathyrus tingitanus* rief das Ackerbohnenmosaikvirus ein deutliches, grünes Mosaik hervor. Die ersten Blätter trugen ein längs gestreiftes gelbgrün-dunkelgrünes Muster entlang der Adern, spätere Blätter blieben klein und kraus, oft pfriemförmig eingerollt und trugen transparente Srichelfleckungen, während der Stengel gestaucht und bräunlich-violett verfärbt war. Fiederblatt- und Spitzenwelke waren auch hier zu beobachten.

Abb. 8. Symptombild auf Steinklee (*Melilotus albus*)

Trifolium incarnatum zeigte nach der Infektion zunächst eine unregelmäßig verbreiterte Aufhellung der Adern (Abb. 9). Auf den folgenden Fiederblättern entstand ein verschieden stark ausgebreitetes Mosaik aus heller grünen, unregelmäßig zusammenhängenden Flecken. In manchen Fällen bleichten diese Flecken später und bräunten sich. Auf den Blättern von Linse erschien das Adernnetz fleckweise bis regelmäßig grau gezeichnet. Die Spitzenblätter kräuselten sich, blieben klein und trugen teilweise eine grünliche Mosaikzeichnung. Infizierte Wicken (*Vicia sativa, V. villosa* und *V. pannonica*) ließen neben Blattkräuselungen und -verkleinerungen eine Adernaufhellung sowie ein grünes Mosaik erkennen; die Adern waren dabei mitunter bräunlich verfärbt. Zwei Sorten von *Vicia sativa* waren durch Preßsafteinreibung unterschiedlich leicht infizierbar. Auf *Cicer arietinum* folgte der Infektion eine chlorotische Fleckung der teilweise gekräuselten und sich einrollenden Fiederblättchen, später auch Gilbung und totale Welke von der Triebspitze her. In einigen Fällen gelang auch die Infektion von *Lupinus albus*. Auf den erkrankten, schwach gewellten Blättern traten mehrfach hellgrüne, rundliche, gelegentlich nekrotisch gebräunte Flecken von 1 bis 2 mm Größe, mitunter auch in ringförmiger Gestalt, auf. Jüngere Blätter zeigten ein grünes Mosaik (Abb. 9).

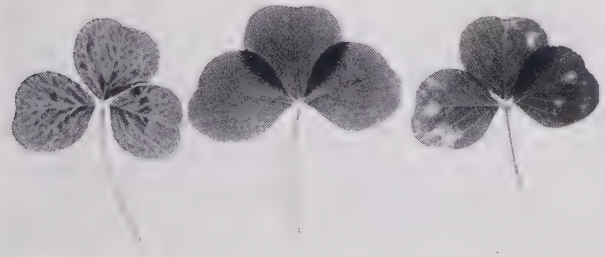


Abb. 9. Infektion auf Inkarnatklee. Mitte: gesundes Blatt, links: Vorstufe

Abb. 10. Mosaiksymptome auf Weißlupine

Jahreszeitliche Veränderungen des Symptombildes

Die Symptomausprägung des Ackerbohnenmosaikvirus unterlag während der mehrjährigen Übertragungen auf Erbse und verschiedenen anderen Testpflanzen deutlichen Schwankungen, die teilweise in Zusammenhang mit den jahreszeitlichen Wachstumsbedingungen standen, zum anderen aber auch von der Virulenz des verwendeten Stammes abhängig waren. Das im ersten Teil beschriebene Symptombild auf Erbse entspricht im wesentlichen dem Befallsbild während der Frühjahrs- und Sommermonate. In dieser Zeit folgte bei Infektion mit einem virulenten Stamm nach kräftiger Adernaufhellung eine starke Reduktion der anschließenden mosaikgezeichneten Blätter, die dabei deutlich kräuselten, aber nur bei starken Stämmen welkten und eintrockneten, während in dieser Jahreszeit nur sehr selten Spitzennekrosen auftraten. In den Herbst- und Wintermonaten waren dagegen die Welkesymptome akuter und genereller. Der Welke der ersten symptomtragenden Fiederblätter folgte meist schon beim Entfalten eine Welke und Nekrose der anschließenden jungen Spitzenknospe (Abb. 5 oben). Nicht selten starb in der Folge die ganze Pflanze unter Hinzutreten von Fußkrankheiten ab. Diese Tendenz zu starker, oft genereller Welke setzte bei Testsorten wie Peragis Beisaat-Erbse und Laxtons Progress etwa bei den Ende Oktober durchgeführten Inokulationen ein. In einem Versuch wuchsen die am 3. Oktober 1951 beimpften Erbsen nach schwacher Fiederwelke wieder grün durch, während eine am 27. Oktober 1951 eingeriebene Serie schon bald Akronekrosen aufwies und mehrere Pflanzen total zusammenbrachen. Diese starken Welkeerscheinungen herrschten etwa bis Ende Januar vor; spätere Infektionen wiesen zunehmend wieder das sommerliche Krankheitsbild auf.

Überlagert wurde dieses jahreszeitliche Reaktionsbild von dem Virulenztyp des verwendeten Virusstammes (vgl. Seite 433): schwächere Varianten des AMV wie die Isolierungen EV 11 M und EV 205 riefen selbst im Winter keine oder nur äußerst schwache Welkeerscheinungen hervor, während sehr starke Typen auch im Sommer gelegentlich Fieder- und Akronekrosen im Gefolge hatten. Jahreszeitlich wechselnde Welkeerscheinungen traten in ähnlicher Weise auch auf anderen Wirtspflanzenarten auf, so beispielsweise auf Platterbse, Gartenwicke und einigen Futterwickenarten. Auf *Vicia faba* machte sich in den Wintermonaten eine Maskierung der Mosaiksymptome bemerkbar; gleichzeitig war eine Neigung zur Nekrose der Sproßspitzen zu beobachten.

Die Sortenreaktion bei Ackerbohnen

Das Verhalten zahlreicher Ackerbohnensorten gegenüber der Infektion durch das AMV wurde im Gewächshaus in den Monaten April und Mai geprüft. Die jungen Pflanzen wurden mit Karborund eingestäubt und die beiden zuletzt entfalteten Fiederblattpaare mit dem Preßsaft kranker Erbsenpflanzen eingerieben. Die ersten Symptome traten nach etwa sieben Tagen an den übernächsten sich neu entfaltenden Blättern auf und ließen mit nur geringfügigen Unterschieden auf allen Sorten das typische, oben näher beschriebene

Mosaikbild erkennen. In dem Versuch wurden folgende Sorten geprüft: die Feldbohnen (var. *minor*) Adria, Boekers Butjadinger, Breustedts Schladener Kleine, Dithmarscher, Francks Hohenloher, Friedrichswerther Berg, Füllbergs Dunsener, Herz Freya, Lohmanns Weender, Niki, Oberbehmer Dicke, Rastatter Kleinkörnige, Rosenhofer, Strubes, Wadsacks Kleine Thüringer und die Puffbohnen (var. *major*) Dreifach Weiße, Erfurter gewöhnliche, Expreß, Hangdown, weißkeimige Hangdown, Osnabrücker Markt, grünbl. Windsor und weißkeimige Zwijndrechter. Sämtliche Sorten zeigten einen deutlichen Befall, der meist zwischen 90 und 100 % lag, so daß keine der herangezogenen Formen Aussicht zur Züchtung resistenter Sorten bietet. Dieses Ergebnis wurde in Freilandversuchen mit 19 Ackerbohnen- und 10 Puffbohnensorten bestätigt.

Die Sortenreaktion bei Erbsen

Im Verlauf der Untersuchungen wurde ein umfangreiches Erbsensortiment gegen den typischen Stamm EV 11 getestet, einmal um die Sortenreaktion kennenzulernen, dann aber auch, um etwaige Unterschiede im Resistenzverhalten der Sorten aufzufinden, die diagnostisch zur Unterscheidung des AMV von anderen Viren zu verwerten sein würden. Die Versuche wurden hauptsächlich im Januar angesetzt, zu einer Zeit, in der sich die Erkrankung an Erbsen außer in einem Kräuselmosaik auch häufig in einer Spitzennekrose manifestiert. Ein Teil der Sorten wurde im Sommer erneut geprüft, wobei die Infektionsprozente teilweise höher lagen als im Winterversuch, ohne indessen grundsätzlich andere Ergebnisse zu zeigen. Getestet und in erheblichem Grade befallen wurden die folgenden Erbsensorten:

Markerbsen: Alderman, Delikatess, Gebr. Dippes Delex, Gebr. Dippes Deli, Gebr. Dippes Foli, Laxtons Progress, Lincoln, Salzmünder Edelperle, Salzmünder Frühe, Schreibers Duplika, Senator, Terras Hada II, van Waverens Juwel, van Waverens Stern, Wunder von Amerika, Wunder von Kelvedon sowie die ausländischen Markerbsen Greenfeast, Onward, Perfection (fünf verschiedene Handelsherkünfte aus den USA), Laxtons Perfection, Wisconsin Perfection, Profusion und Thomas Laxton;

Schal- oder Pahlerbsen: Allerfrüheste Mai, Braunschweiger grünbleibende, Gebr. Dippes Heralda, Kleine Rheinländerin, Konservenkönigin, Dr. Neuers Kronenperle, Saxa, französische Schnabel, grünhülsige Schnabel mit gedrücktem Korn, Terras Brunsviga, Terras Exalda, Überreich, Vorbote, Zeiners Grüne Bastard und als ausländische Sorten Alaska, Improved Surprise, Rondo und Surprise;

Zuckererbsen: Frühe Heinrich, Graue buntblühende, Riesensäbel und Schweizer Riesen;

Trockenspeiseerbsen: Hohenheimer Grüne Viktoria, Weender Grüne Viktoria, Lohmanns Weender Kurzstroh, Mahndorfer Viktoria F. G., Peragis Beisaat, Peragis Felderbse, Rimpaus Grüne Viktoria, Salzmünder Grüne Speise, Salzmünder Viktoria, Schorrs Rappoldshofer Viktoria, Späths Grüne Folger, Strengs Frauenlob, Strubes Frühe Viktoria, Svalöfs Buttererbse, Zeiners kurz und gut;

Futtererbsen: Hohenheimer Rosablühende, Lucienhofer Wintererbse, Mansholts Kurze Grüne, Nordwestdeutsche Futtererbse (Krupp-Peluschke), Strengs Weihenstephaner Felderbse, Svalöfs Futtererbse Hero, Kapuziner Futtererbse und Neuseeländische braune Felderbse.

Unter diesen 69 geprüften Sorten fand sich keine widerstandsfähige Form. In den meisten Fällen waren 40 bis 100 % der inokulierten Pflanzen

infiziert. Auch die Sorten Perfection und Surprise wurden befallen. Da diese Sorten nach den Ergebnissen ausländischer Autoren (STUBBS 1937, ZAUMEYER und WADE 1936) gegen das Pisum-Virus 2 K. M. SMITH (gewöhnliches Erbsenmosaik, *Marmor leguminosarum* Holmes) und nach PIERCE (1935), allerdings eingeschränkt durch HAGEDORN (1951), wenigstens weitgehend gegen das Gelbe Bohnenmosaik (Phaseolus-Virus 2 K. M. SMITH) resistent sind, bietet auch eine Passage über eine dieser Erbsensorten eine Möglichkeit, das Ackerbohnenmosaikvirus von den beiden genannten, ebenfalls auf *Vicia faba* auftretenden Viren abzutrennen.

Physikalische Eigenschaften des AMV

Die Versuche zur Ermittlung der üblichen physikalischen Eigenschaften wurden überwiegend mit Erbsen als Testpflanzen durchgeführt, da infolge der erwähnten Samenübertragbarkeit bei Verwendung von Ackerbohnen die Möglichkeit gegeben wäre, gelegentlich durch sameninfizierte Pflanzen die Versuchsserien zu stören, was bei Erbsen nach den bisherigen Beobachtungen nicht zu erwarten war. Das Infektionsmaterial lieferten im allgemeinen künstlich inokulierte und stark erkrankte Erbsenpflanzen. Der Preßsaft wurde nach Filtration durch Glaswolle den Anforderungen der Versuche entsprechend weiterverarbeitet.

Inaktivierung durch Erhitzung: Um die Inaktivierungstemperatur des AMV im Preßsaft zu ermitteln, wurde jeweils 1 ccm des unverdünnten Saftes in dünne Glasröhrchen gefüllt und verschlossen im Wasserbad bei der jeweils zu prüfenden Temperatur für zehn Minuten erhitzt. Die Versuche wurden mit dem Stamm EV 11 mehrfach und zu verschiedenen Jahreszeiten wiederholt (Tabelle 2) und später durch eine teilweise mit größeren Stufen durchgeführte Prüfung auch anderer Isolate erweitert (Tabelle 6 u. 10). Die Temperaturtoleranz liegt bei den meisten geprüften Isolierungen etwas über 66 ° C und dürfte nach dem Befund mit dem Isolat W 283 (Tabelle 10) zwischen 68 und 70 ° C anzusetzen sein. Bei dem Isolat EV 11 wurde gelegentlich eine Toleranz bis 75 ° angetroffen, in der Mehrzahl der Versuche wurde indessen auch hier das Intervall von 66 bis 70 ° als typisch bestätigt.

Tabelle 2

Toleranz des Isolates EV 11 gegenüber Erhitzung im Preßsaft

Temp. °C	Vers. 1	2	3	4-5	Total	%
Nicht erhitzt	11/11	11/11	14/15	9/10	45/47	96
60	19/19	—	9/15	17/30	45/64	70
63	12/19	—	—	—	12/19	63
66	10/17	2/16	—	4/27	16/60	27
70	2/19	0/15	0/15	0/30	2/79	2,5
75	—	2/17	0/15	0/30	2/62	3,2
80	—	—	0/15	—	0/15	0
85	—	—	0/15	—	0/15	0
90	—	—	0/15	—	0/15	0

Verdünnungsgrenze: Der filtrierte Preßsaft kranker Erbsenpflanzen wurde mit destilliertem Wasser auf die gewünschten Stufen bis 1 : 1 000 000 verdünnt. Das Ergebnis zahlreicher Versuche aus verschiedenen Jahreszeiten zeigt für EV 11 eine Inaktivierungsgrenze zwischen 1 : 1000 und 1 : 10 000 (Tabelle 3).

Tabelle 3

Toleranz des Isolates EV 11 gegenüber Verdünnung im Preßsaft

Verdünnungsstufe	Summe aus 6 Serien	%
Rohsaft	61/67	91
1:10	15/15	100
1:100	38/60	63
1:1000	23/99	23
1:10000	0/109	0
1:100000	0/106	0
1:1000000	0/70	0

Tabelle 4

Verhalten des Isolates EV 11 im Preßsaft in vitro

Alter in Tagen	Versuch 1	Versuch 2	Gesamt	%
Kontrolle (sofort beimpft)	8/10	10/10	18/20	90
1	4/10	—	4/10	40
3	3/10	4/12	7/22	32
5	0/9	4/15	4/24	17
6	—	1/15	1/15	6,7
7	0/10	0/15	0/25	0
10	—	0/15	0/15	0
15	—	0/15	0/15	0

Verhalten in vitro: Der unverdünnte Preßsaft wurde in verschlossenen Glaskolben bei Zimmertemperatur aufbewahrt; in Abständen von einigen Tagen wurde ein Teil abgenommen und in der beschriebenen Weise auf junge Erbsen verrieben. Der Preßsaft behielt bei EV 11 seine Infektiosität meist bis zu sechs Tagen, Übertragungen mit sieben Tage alten oder älteren Proben (bis 15 Tage) blieben hier und bei anderen Isolaten negativ. In abgeschnittenen Erbsenpflanzen, die locker zwischen Filtrierpapier im Laboratorium zum Trocknen aufbewahrt und in bestimmten Abständen — mit etwas Wasser gepreßt — inokuliert wurden, war das Virus nach 15 Tagen noch infektiös; Verreibungen nach 20 und 25 Tagen blieben negativ.

Variabilität des AMV

Im Laufe der zahlreichen Isolierungen des AMV wurden Stämme von unterschiedlichem Verhalten gewonnen. Bereits die beiden ursprünglichen Isolate EV 11 und EV 14 zeigten auf der Peragis Beisaat-Erbse graduelle und seither beibehaltene Symptomdifferenzen, indem EV 11 stärker zur Welke

neigte, während EV 14 ein brilliantes Kräuselmosaik, jedoch keine Welke zeigte. Die Mehrzahl der übrigen Isolate von *Vicia faba* und anderen Wirtspflanzen entsprach symptomatisch etwa dem stärkeren Typ, den wir daher als den verbreiteteren ansehen möchten. Einige besonders stark abweichende Formen sind im folgenden näher darzustellen: Von einer samenkrank aufgelaufenen Ackerbohnenkeimpflanze wurde im Frühjahr 1951 als EV 205 eine Form isoliert, die zwar noch eine kräftige Mosaikzeichnung besaß, aber nur geringe Blattreduktionen und Kräuselungen zeigte (Abb. 12 unten links). Eine noch auffallendere Mutante (EV 11 M) spaltete sich während der Erhaltungsübertragungen aus dem Isolat EV 11 im Herbst 1950 auf Erbsen ab: in einem Satz EV 11-infizierter Laxtons Progress-Pflanzen mit typischen Akronekrosen oberhalb des fünften Fiederblattes fand sich eine Pflanze, die völlig ohne Welkeerscheinungen geblieben war. In getrennten Subinokulationen behielt dieser Typ seine Eigenart dauernd bei. Das Symptombild wies nach einer deutlichen hellgrünen Nervenaufhellung auf dem folgenden, nahezu normal gestalteten Blatt eine hellgrüne, schildpattähnliche Mosaikfleckung auf (Abb. 11). Nach einigen mehr oder weniger symptomfreien Blättern dringt spitzenwärts wieder eine Mosaikzeichnung aus zerstreuten, rundlichen, oft deutlich ringartigen Aufhellungsflecken von etwa 1 bis 2 mm Durchmesser durch (Abb. 12 oben rechts). Die Varianten EV 11 M, EV 14 und EV 205 wurden auch hinsichtlich des Wirtspflanzenkreises und der physikalischen Eigenschaften

Abb. 11. Schwaches Mosaik auf Erbse, Stamm EV 11 M

Tabelle 5

Vergleichende Wirtspflanzenversuche mit unterschiedlich starken Varianten des Ackerbohnenmosaikvirus

Testpflanzenart	EV 11	EV 14	EV 205	EV 11 M
Lathyrus odoratus	21/21	17/21		7/10
Lathyrus sativus	5/7		4/4	3/3
Lathyrus tingitanus	14/21	5/9	7/9	6/8
Lens esculenta	34/36	23/34		19/25
Melilotus albus	6/12		4/12	1/15
Phaseolus vulgaris	+	8/27		1/6
Pisum arvense	6/9	6/7	4/4	5/9
Pisum sativum				
Beisaaterbse	15/15	19/19	14/15	24/70
Perfection	14/21	6/8	3/3	3/5
Trifolium incarnatum	4/6	6/10	0/10; 1/6	0/10
Vicia faba v. *minor*	70/73	+	1/5	10/13
Vicia sativa				
Engelens (U 28)	1/35	5/30		0/19
Svalöfs Süßwicke	13/14	6/7	4/7	16/18
Vicia villosa	19/30	7/12	4/8	5/12

Abb. 12. Mosaiksymptome verschieden starker Stämme des AMV auf Triebspitzen von Viktoriaerbse. Oben links: gesunde Kontrolle; rechts: schwache, ringartige Flecken (EV 11 M); unten links: mittelstarkes Mosaik (EV 205); rechts: starkes kräuselndes Mosaik (EV 11)

im Vergleich mit EV 11 untersucht (Tabelle 5). Der Wirtspflanzenkreis dieser drei schwächeren Mutanten zeigte zwar im wesentlichen Übereinstimmung mit dem Typus; vielfach waren jedoch auf einzelnen Wirten wie auf Erbse die Symptome gegenüber dem Normaltyp abgeschwächt. So fehlten beispielsweise auf Platterbse, Linse und Gartenwicke die Welkekomponente oder auf *Melilotus albus* eine deutliche Kräuselung. Bemerkenswert scheint ferner eine Schwächung der Virulenz zu sein. Auf manche Wirte war z. B. die schwache

Mutante EV 11 M weniger leicht zu übertragen als der normale Stamm. Die Anzahl gelungener Inokulationen blieb beispielsweise auf Peragis Beisaat-Erbse im Durchschnitt niedriger als beim Ausgangstyp EV 11 (Tabelle 5). Die geringere Infektiosität zeigte sich besonders auch bei solchen Wirtspflanzen, die schon von den starken Isolaten schwieriger zu infizieren waren, wie teilweise Buschbohne, Weißlupine und Inkarnatklee. Auch hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften ist teilweise eine Depression der Toleranz zu erkennen, die sich besonders bei dem schwächsten Typ EV 11 M bemerkbar machte. Als Ursache dürfte u. a. eine geringere Konzentration des avirulenten Stammes zu vermuten sein.

Tabelle 6

Physikalische Eigenschaften der Varianten

	EV 11	EV 14	EV 205	EV 11 M
Temperaturgrenze zwischen	66-70 (75)	66-70	65-70	60-66°
Verdünnungsgrenze zwischen	1:1000 und 1:10000	1:1000 und 1:10000	1:800 und 1:1000	1:100 und 1:800
Verhalten in vitro (in Tagen)	6-7	4-5	5-7	1-3

Prämunitätsversuche mit dem Ackerbohnenmosaikvirus

Zur Bestätigung der Verwandtschaft der verschiedenen Mutanten untereinander und zur Abgrenzung des Ackerbohnenmosaikvirus gegenüber anderen auf *Vicia faba* vorkommenden Mosaikviren wurden wiederholt Prämunitätsversuche durchgeführt. Obgleich bei den hier zu untersuchenden Viren nicht der für Prämunitätsteste besonders günstige Fall vorlag, daß eine der zu prüfenden Formen auf den eingeriebenen Blättern lokale Primärläsionen hervorrief wie etwa beim Aucubamosaikvirus und Tabakmosaikvirus auf *Nicotiana sylvestris* (KUNKEL 1934), so war in unseren Versuchen eine Unterscheidung der beiden nacheinander zu inokulierenden Viren dadurch möglich, daß zur zweiten Infektion stets der starke Stamm EV 11 gewählt wurde. Dieser hob sich durch starkes Kräuselmosaik, Reduktion der Fiederblattgröße und durch eine ± ausgedehnte Welke von den übrigen, zum Vergleich herangezogenen Viren ab. In den Prämunitätsversuchen wurden Erbsenpflanzen im Jugendstadium zunächst mit dem schwächeren der beiden zu vergleichenden Virusarten bzw. Virusstämme eingerieben. Erst wenn die Symptome des erstinokulierten Virus auf den neu entfalteten Blättern deutlich in Erscheinung getreten waren, wurde als zweites Virus das Isolat EV 11 auf diese mosaiktragenden Blätter eingerieben. Als Kontrollen wurden möglichst einige Pflanzen nur mit dem ersten Virus, bei der zweiten Impfung einige bis dahin unbehandelt gebliebene Erbsen nur mit dem zweiten Virus inokuliert.

Für die auf Grund des Wirtskreises, des Symptombildes und der physikalischen Eigenschaften gewonnene Auffassung, daß die abweichenden Virus-Isolate EV 14 und EV 11 M (vgl. Seite 434) verschieden virulente Mutanten

Tabelle 7
Prämunitätsversuche mit verschieden starken Stämmen des Ackerbohnenmosaikvirus

Anzahl inokul. Pflanzen	Erstinfiziertes Virus	Nachinfiziertes Virus	Auftreten des 2. Virus	
			Pflanzenzahl	%
7	EV 14	nicht inokuliert	—	—
25	EV 14	EV 11	0	0
27	nicht inokuliert	EV 11	18	66,7
6	EV 11 M	nicht inokuliert	—	—
22	EV 11 M	EV 11*)	0	0
16	EV 11 M	EV 11**)	3	18,8
20	nicht inokuliert	EV 11	20	100
28	EV 11 M	EV 11*)	0	0
29	nicht inokuliert	EV 11	28	92

*) EV 11 auf Blätter mit deutlichen Symptomen des ersten Virus eingerieben, bei **) auf weitgehend maskierte Blätter.

oder Stämme des Ackerbohnenmosaikvirus darstellen, spricht auch das Ergebnis der Prämunitätsversuche. Wie Tabelle 7 erkennen läßt, wurde die Zweitinfektion mit dem starken Stamm EV 11 völlig unterbunden, wenn zuvor eine systemische Infektion mit dem Stamm EV 14 erfolgt war. Ein hoher Schutzeffekt lag auch bei dem schwachen Stamm EV 11 M vor; bei dieser letzten Form reichte die Prämunitätswirkung nur in dem Fall offenbar nicht ganz aus, in dem das zweitgeimpfte starke Virus auf „erholten" Fiederblättern mit weitgehend maskierten Symptomen des erstgeimpften Stammes inokuliert worden war. In drei von 16 solcherart eingeriebenen Pflanzen konnte das starke EV 11-Symptombild an der Triebspitze in Erscheinung treten. Diese Schutzwirkung der Mutanten des AMV untereinander spricht nach der Deutung der Prämunitätserscheinungen (vgl. Köhler 1943) für eine Verwandtschaft der getesteten Isolate.

Da wir in mosaikbefallenen *Vicia faba*-Beständen neben dem Ackerbohnenmosaikvirus sowohl ein dem gewöhnlichen Erbsenmosaikvirus (*Marmor leguminosarum* H.) nahestehendes Virus als auch gelegentlich das gelbe Bohnenmosaikvirus (Bohnenvirus 2) (noch unveröffentlicht) angetroffen haben, wurden auch Isolate dieser beiden Viren auf ihr Verhalten gegenüber dem AMV in Prämunitätsversuchen geprüft. Vom Erbsenmosaik-Virus wurde zunächst eine von *Vicia faba* stammende Isolierung herangezogen. Tabelle 8 zeigt, daß sich im ersten Versuch das Ackerbohnenmosaikvirus in acht von 19 Überimpfungen gegenüber dem Symptombild des vorher inokulierten Erbsenmosaiks durchsetzte. Die Erstinfektion mit dem Erbsenvirus verminderte also die Befallsprozente der zweiten Infektion (EV 11) im Verhältnis zur Kontrolle nur unwesentlich, und zwar von 46,7 % auf 42 %. In einem späteren Versuch gelangen trotz Erstinfektion mit dem Erbsenvirus noch 80 % der EV 11-Nacheinreibungen. Ebensowenig vermochte ein Isolat

Tabelle 8
Prämunitätsversuche mit verschiedenen Viren gegenüber dem Ackerbohnenmosaikvirus

Anzahl inokulierter Pflanzen	Erstinfiziertes Virus	Nach-infiziertes Virus	Auftreten des 2. Virus	
			Pflanzenzahl	%
19	Erbsenmosaik (Isolat von *Vicia faba*)	EV 11	8	42
15	nicht inokuliert	EV 11	7	46,7
5	Erbsenmosaik (Isolat von *Vicia faba*)	EV 11	4	80
4	Erbsenmosaik (Isolat von Erbse)	EV 11	4	100
10	Gelbes Bohnenmosaik (Isolat von Buschbohne)	EV 11	8	80
11	Gelbes Bohnenmosaik (Isolat von *Lupinus albus*)	EV 11	9	82

des Erbsenmosaikvirus von Erbse den Infektionserfolg des nachgeimpften Stammes EV 11 zu hemmen. Vom gelben Bohnenmosaikvirus wurden ein Isolat von Buschbohne (*Phaseolus vulgaris*) sowie eines von *Lupinus albus* zur Erstinfektion verwendet. Trotz dieser Vorinfektion setzte sich das nachträglich inokulierte AMV in der ersten Kombination in 80 %, in der zweiten in 82 % der Einreibungen über die Symptome des Bohnenvirus durch. Eine Schutzwirkung gegenüber dem Ackerbohnenmosaik kam also weder dem Erbsenvirus noch dem Bohnenmosaikvirus zu. Nähere verwandtschaftliche Beziehungen dieser beiden Viren zu dem Ackerbohnenmosaikvirus scheinen daher nach diesem negativen Ausfall der Prämunitätsversuche nicht gegeben zu sein.

Untersuchungen mit Virusisolaten von verschiedenen natürlichen Wirtspflanzen

Im Verlauf der Untersuchungen konnten wir das Virus des Ackerbohnenmosaiks in unserem Gebiet im Freiland auch von weiteren Kulturpflanzen, so von Süßwicke, Erbse, Platterbse und Narbonner Wicke, wenn auch weit weniger häufig als von Ackerbohnen und Puffbohnen isolieren.

Im Sommer 1950 gelangte eine Einsendung stark erkrankter Saatwicken der Sorte „Svalöfs Süßwicke" aus Ostholstein zur Untersuchung. Die etwa 125 cm hohen und zunächst kräftig ausgebildeten Wickenpflanzen wiesen in der Spitzenregion starke Schäden auf. Die anfangs noch normal großen Blätter der erkrankten Zone zeigten eine gelbgrüne Fleckung und Streifung entlang der sich oft braun verfärbenden Adern. Die anschließenden Blätter waren auffallend klein geblieben und teilweise stark kraus und beulig deformiert, die Stengelinternodien rotbraun gefleckt und deutlich gestaucht (Abb. 13). Die Hülsen waren vielfach gedrungen, beulig gebogen und teilweise auch unregelmäßig braun gefleckt. Zur Spitze hin ließen die Symptome

Abb. 13. Süßwicke: Feldinfektion durch Ackerbohnenmosaikvirus. Starke Infektionsphase

Abb. 14. Erbse: Feldinfektion durch Ackerbohnenmosaikvirus

an Heftigkeit nach. Von derartig erkrankten Pflanzen wurden die Isolate W 115 und W 116 in Kultur genommen, die auf Erbse symptomatisch dem starken Ackerbohnenmosaik-Stamm EV 11 glichen.

Herkünfte von Erbsen: Natürliche Infektionen des AMV auf Erbse scheinen nur selten vorzukommen, obgleich das Virus durch Saftabreibung leicht auf Erbsenpflanzen zu übertragen ist. Im Sommer 1951 fanden wir im südlichen Niedersachsen zwei an Draht gezogene Erbsenpflanzen spezifisch erkrankt. Beide Pflanzen wuchsen — nur durch einen etwa 1,5 m breiten Weg getrennt — neben mosaikkranken Ackerbohnenparzellen. Der Befall hatte etwa im oberen Drittel mit einer Adernaufhellung der Stengel- und später auch der Fiederblätter begonnen. Die folgenden Blätter wiesen ein geflammtes Mosaik mit diffusen bleichen Partien auf, in denen das Adernnetz dunkelgrün gezeichnet war. Wie im Gewächshaus, ergänzten Blattkräuselungen und transparente Blattflecken das Symptombild. In der stärksten Reaktionszone traten bräunliche Stengelstrichelungen auf, die Fiederblätter blieben winzig und welkten früh ab (Abb. 14). Die wieder größer entwickelten Spitzenblätter trugen rundliche diffuse Flecken. Starke Seitentriebentfaltung gab den kranken Pflanzen ein buschiges Aussehen. Da Abreibungen von beiden Pflanzen auf Testerbsen in ihrem Symptombild auf das Ackerbohnenmosaikvirus hinwiesen, wurde eines der Isolate als E 271 näher untersucht.

Ende Juli 1951 wurden in Celle auf zwei getrennten Versuchsfeldern in Parzellen von Dieckmanns Platterbse (*Lathyrus tingitanus*), die in der Nachbarschaft von *Vicia faba*-Schlägen lagen, kranke Pflanzen mit deutlichen Virussymptomen im oberen Teil des Sprosses beobachtet. Die oft verkrümmten Blätter und Nebenblätter trugen hier eine grüne Mosaikzeichnung und

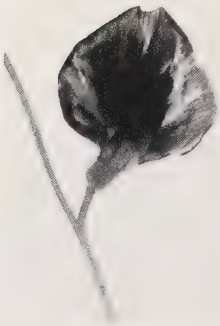


Abb. 15. Feldinfektion auf Platterbse: Blütensymptome

farblose strichelartige Flecken. In der Zone starker Stengelstauchung saßen den teilweise braungefleckten Internodien nur äußerst kleine, eingerollte Blättchen an. Die Petalen der tief violetten Blüten wiesen kräftige helle bis farblose längliche Flecken auf (Abb. 15). Die Abreibungen derartiger Platterbsen ergaben im Gewächshaus auf verschiedenen Testpflanzen starke, E 11-artige Symptome. Eine weitere natürliche Infektion wurde auf *Vicia narbonensis* nachgewiesen, die in einem Zuchtgartensortiment im Kreise Nienburg (Weser) stand. Die Pflanze besaß mosaikartig gefleckte und etwas wellige Blätter. Gewächshausteste ergaben eine Mischinfektion eines typischen Stammes des Ackerbohnenmosaikvirus mit dem gelben Bohnenmosaikvirus.

Tabelle 9

Wirtspflanzenkreis von Isolaten des AMV von verschiedenen Wirtsarten

Herkunft der untersuchten Isolate:

Testpflanzenart	W 115/116 v. Saatwicke	E 271 v. Erbse	W 283 v. Platterbse	EV 11 v. Puffbohne
Lathyrus odoratus	10/10	5/5	4/8	21/21
Lathyrus sativus		3/5		5/7
Lathyrus tingitanus	7/7	1/11	6/9	14/21
Lens esculenta	21/28			34/36
Lupinus albus	4/8			1/37
Melilotus albus	1/3	7/10	3/10	6/12
Phaseolus vulgaris	2/6		5/8	+
Pisum arvense	8/8	6/6	2/2	6/9
Pisum sativum				
Beisaaterbse	36/40	7/10	19/19	15/15
Perfection	13/13	3/4		14/21
Trifolium incarnatum	1/8	5/6	0/7	4/6
Trifolium pratense	0/9	0/7	0/30	0?/30
Trifolium repens	1?/10	0/17	1?/12	3?/35
Vicia faba v. *minor*	3/5	4/5		70/73
Vicia sativa				
Svalöfs Süßwicke	13/15	5/9	8/12	13/14
Vicia villosa	7/8	7/12	6/10	19/30

Die Untersuchung des Wirtspflanzenkreises der AMV-Isolate von Süßwicke, Erbse und Platterbse ergab im Umfang und auch symptomatisch eine hohe Übereinstimmung mit dem typischen *Vicia faba*-Stamm EV 11 (Tabelle 9). Auch einige dieser Isolate riefen vereinzelt mosaikähnliche Blattzeichnungen auf Weißklee hervor, jedoch schlugen bisher alle Kontrollrück-

impfungen von Weißklee auf Erbse fehl, so daß der Viruscharakter dieser Erscheinungen noch nicht sicher ist. Hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften lagen die ermittelten Werte für die verglichenen Isolate im Rahmen der für das Puffbohnenisolat EV 11 festgestellten Inaktivierungsgrenzen (Tabelle 10).

Tabelle 10

Physikalische Eigenschaften verschiedener Isolate des AMV
(Erbsen als Testpflanze)

	W 115 v. Saatwicke	E 271 v. Erbse	W 283 v. Platterbse	EV 11 v. Puffbohne
Temperaturgrenze zwischen	60—70 °	66—70 °	68—70 °	meist 66—70 °
Verdünnungsgrenze zwischen	1 : 1000 und 1 : 10 000	1 : 5000 und 1 : 10 000	—	1 : 1000 und 1 : 10 000
Lebensdauer in vitro (in Tagen)	5—7	6—7	6—7	6—7

Übertragung durch das Saatgut

Erhebliche praktische Bedeutung für die Überwinterung und Verbreitung kommt der Übertragung von Viren durch das Saatgut zu, wie diese besonders für das gewöhnliche Bohnenmosaikvirus, für das Sojamosaikvirus und einige andere bekannt ist. Für das vorliegende Ackerbohnenmosaikvirus wurde 1950 der Nachweis der Samenübertragbarkeit mitgeteilt und in der Zwischenzeit die damalige Beobachtung durch neues Material bestätigt und erweitert. In größerer Zahl wurden erkrankte Ackerbohnenpflanzen einzeln geerntet und der Infektionsgrad des Saatgutes durch Nachbau im Gewächshaus oder im Freiland ermittelt. Dabei erwies sich die Samenernte von mosaikkranken Einzelpflanzen zu etwa 2,5 bis 15 % infiziert, ein Teil der als krank markierten Bohnenpflanzen lieferte jedoch — auch bei früh eingetretener Infektion — keine kranken Samen. Aus der im Rahmen besonderer Versuche durchgeführten Nachbauprüfung einer Anzahl von Ackerbohnenherkünften (*Vicia faba* var. *minor*) aus normalen Feldanbauten ergab sich, daß die Höhe des Samenbefalls derartiger Partien zwischen 0 und 1 %, gelegentlich auch etwas darüber lag. Bei Puffbohnensaat (var. *major*) wurde dabei mehrfach eine etwas stärkere Sameninfektion — bis zu 2,8 % — gefunden.

Abb. 16. Sameninfizierte Ackerbohnenpflanzen mit Mosaik und Kräuselungen (Gewächshausaussaat)

Vom Samen her erkrankte Sämlinge zeigen vielfach beim Auflaufen schon auf dem ersten sich entfaltenden Fiederblatt (Abb. 16) ein Mosaikmuster, in dem mitunter auch heller grüne ringartige Zeichnungen vertreten sind. Das Blatt selbst ist verschieden stark gekräuselt und gebeult und oft in seiner Größe reduziert. Samenkrank aufgelaufene Pflanzen bleiben zumeist auch späterhin in ihrer Wüchsigkeit, Blattentwicklung und im Hülsenansatz hinter normalen Individuen mehr oder weniger stark zurück. Vielfach bringen sie überhaupt keinen Samenertrag. Um so erheblicher ist die Gefahr, die derartige von Anfang an erkrankte Keimpflanzen als frühe Infektionsquellen für die benachbarten gesunden Pflanzen bilden können. Allerdings ist noch ungeklärt, ob und welche Insekten als Vektoren für die Ausbreitung des Ackerbohnenmosaikvirus von kranken auf gesunde Pflanzen verantwortlich sind. Zahlreiche Feldbeobachtungen, sowohl über den räumlichen als auch über den zeitlichen Infektions- und Ausbreitungsablauf, scheinen indessen dafür zu sprechen, daß tierische Überträger dabei eine Rolle spielen.

Literaturübersicht

Obgleich die Ackerbohne als Testpflanze für die meisten Leguminosenviren herangezogen wurde, ist die Aufklärung ihrer natürlichen Viruskrankheiten teilweise noch lückenhaft (WEISS 1945). In einer eingehenden Studie über die Mosaikkrankheit der Ackerbohnen beschrieb BÖNING (1927) in erster Linie zwei vorherrschend angetroffene Mosaiktypen: das „Marmoriermosaik" und das „Nervenmosaik", ferner unter anderem eine als Mischinfektion angesprochene Strichelerscheinung. In Übertragungsversuchen gelang es nicht, Marmoriermosaik und Nervenmosaik als selbständige Virusformen voneinander zu trennen. Während die noch ohne Karborundzusatz durchgeführten Preßsaftübertragungen negativ blieben, ließ sich die Mosaikkrankheit durch mehrere Blattlausarten und Zikaden von Ackerbohne auf Erbse und auf Ackerbohne übertragen. Mit einem, allerdings nicht näher identifizierten Virus von *Vicia faba* führte VAN DER MEULEN (1928) zum Teil positive Übertragungen mit Blattläusen von Ackerbohne auf Ackerbohne durch und fand des weiteren bei *Vicia faba* var. *major* bereits zu 2 % Samenübertragung eines ebenfalls undeterminierten Virus. Auch MERKEL (1929) stellte mit einem Mosaikvirus von *Vicia faba* Blattlausübertragungen an und vermutete, daß für die Mosaikkrankheit aller von ihm untersuchten Papilionaceenarten nur ein Virus verantwortlich sei. Möglicherweise hatte ihn die Anwesenheit des Bohnenvirus 2 mit seinem weiten Wirtskreis zu dieser heute nicht mehr zutreffenden Annahme veranlaßt. Schon eingehendere Studien über die Eigenschaften von Ackerbohnenviren führten in Japan FUKUSHI (1930), IMAI (1934) und MURAYAMA (1938) durch. In den Vereinigten Staaten wurde von OSBORN (1937) eine Mosaikkrankheit der Ackerbohne untersucht und einem näher beschriebenen „pea mosaic-Virus 2" zugeordnet, das jedoch nicht mit dem Pisum-Virus 2 nach K. M. SMITH, dem gewöhnlichen Erbsenmosaikvirus, identisch ist. Auch in Arbeiten von PIERCE (1935), ZAUMEYER und WADE (1935) sowie JOHNSON und JONES (1937) sind Virusübertragungen auf *Vicia faba* dargestellt. In Italien untersuchte GIGANTE (1937) ein Ackerbohnenmosaik, das er nach Übertragung auf Erbse, Weißklee und *Phaseolus vulgaris* für komplex bedingt hielt. 1939 analysierte YU an chinesischem Material ein leichtes Ackerbohnenmosaik, das durch Blattläuse, nicht aber mit der Saat übertragen wurde und auf Erbse, Steinklee und Rotklee, jedoch nicht auf Gartenbohne überging. Die unvollständige Kenntnis der Ackerbohnenvirosen fand auch einen Niederschlag in der ausführlichen Zusammenstellung von WEISS (1945), welcher zwar ein „gewöhnliches Ackerbohnenmosaikvirus" aufstellte, das jedoch offenbar ziemlich heterogene Elemente vereinigte und verschiedene Fragen noch offen ließ. In Portugal untersuchte D'OLIVEIRA (1946) ein Ackerbohnenmosaik, das auf Erbse, Gartenwicke, *Lathyrus latifolius* und *Cicer arietinum* über-

ging und durch seine hohe, zwischen 80 und 90 °C gelegene Inaktivierungstemperatur bemerkenswert ist. Nach Yu (1947) ist in China auch das „spotted wilt"-Virus der Tomate auf *Vicia faba* schädigend festgestellt. Anfänglichen Strichelsymptomen folgt hier eine Spitzen-, gelegentlich auch generelle Nekrose der befallenen Bohnenpflanzen. Ein Vorkommen dieser Krankheit wird von Hubbeling (1946) auch in Holland für möglich gehalten; als Ursache des *Vicia faba*-Mosaiks, dessen Übertragung durch den Samen vermerkt wird, vermutet dieser Verfasser das Erbsenmosaikvirus (Pisum-Virus 2). Delle Coste, Offermann und Zabala (1948) wiesen für Argentinien zwei Komponenten des Ackerbohnenmosaiks nach, von denen eins dem Pisum-Virus 1 (Enation-Mosaik-Virus) zugeordnet wurde, während das zweite offenbar dem Phaseolus-Virus 2 (insbesondere dem „sweet pea streak"-Virus von Ainsworth) nahestand. L. L. Stubbs (1947) berichtete aus Australien über eine viröse Gefäßwelke von Ackerbohne im Gebiet von Melbourne, die durch ein mit dem Tabakringflecken-Virus verwandtes Virus hervorgerufen wurde. Ein ähnliches Virus mit weitem, auch Nichtleguminosen wie Gurke, Tomate und Petunie umfassenden Wirtskreis traf auch K. M. Smith (1949) in England auf *Vicia faba* an. In jüngster Zeit beschrieben Bawden, Chaudhuri und Kassanis (1951) aus England ein „broad beanmottle"-Virus, dessen Tötungstemperatur etwa bei 95 °C lag. Es ließ sich mechanisch u. a. auf Erbse, Gartenbohne, Gartenwicke, Inkarnatklee, Rotklee und Soja übertragen. Elektronenmikroskopisch wurden sphärische Partikel von etwa 17 mμ Durchmesser nachgewiesen. Das Auffinden tierischer Vektoren gelang bisher nicht. In Deutschland wurde in jüngerer Zeit außer dem vorliegend beschriebenen Ackerbohnenmosaikvirus, über dessen Samenübertragung bereits 1950 vorläufig berichtet worden ist, noch das Pisum-Virus 1 oder „Enation"-Mosaik-Virus von Ackerbohne nachgewiesen (Quantz 1952 a).

Besprechung

Das vorliegend beschriebene Ackerbohnenmosaikvirus läßt sich mit den aus der zitierten Literatur bisher von *Vicia faba* bekanntgewordenen wie auch mit anderen Leguminosenviren nicht eindeutig identifizieren. Mit der durch Blattläuse übertragbaren Viruskomponente des Ackerbohnenmosaiks bei Böning scheint das AMV nicht identisch zu sein, da die Übertragungsversuche mit verschiedenen Blattläusen, die Völk (noch unveröffentlicht) mit dem AMV anstellte, bislang negativ blieben. Man darf vielleicht vermuten, daß Böning bei den Läuseübertragungen vorwiegend das Erbsenmosaikvirus (Pisum-Virus 2), vielleicht auch das scharfe Adernmosaik (Pisum-Virus 1) vorgelegen hat. Das „gewöhnliche Ackerbohnenmosaikvirus" bei Weiss (1945) scheint noch zu komplex, um hier mit Sicherheit verglichen zu werden. Die von Murayama untersuchte Komponente weicht trotz gewisser Ähnlichkeiten in den physikalischen Eigenschaften jedoch mit der Lebensdauer von 23 Tagen ab. Das „leichte Ackerbohnenmosaikvirus" nach Yu (1939) ist u. a. in Anbetracht seiner Übertragbarkeit durch Läuse und der niedriger begrenzten physikalischen Eigenschaften abzutrennen. Das von Ackerbohne isolierte „pea mosaic"-Virus 2 Osborn (non Smith) entspricht auch im Symptombild nicht unserem Virus, ferner waren seine Lebensdauer und Temperaturtoleranz niedriger. Das von Bawden und Mitarbeitern (1951) untersuchte „broad bean-mottle"-Virus wurde im Gegensatz zu dem von uns beschriebenen AMV erst bei etwa 95 ° inaktiviert und war nicht samenübertragbar. Auch zu dem von D'Oliveira beschriebenen Ackerbohnenvirus mit seiner Inaktivierungsgrenze zwischen 80 ° und 90 ° C scheinen die Temperaturdifferenzen für eine Identifizierung mit dem AMV zu groß zu sein. Verglichen mit anderen Virus-

gruppen unterscheidet sich das AMV durch seine höhere Inaktivierungstemperatur und längere Lebensdauer in vitro, teilweise auch durch das Symptombild und Einzelheiten des Wirtskreises vom Bohnenvirus 2 (PIERCE 1934), vom Erbsenvirus 2 (ZAUMEYER und WADE 1935, STUBBS 1937 u. a.) und vom Schwedenkleemosaikvirus (ZAUMEYER 1940), andererseits aber auch vom Erbsenvirus 1 (vgl. QUANTZ 1952 a) und vom „Wisconsin pea stunt"-Virus, das mit dem „red clover vein-mosaic"-Virus von OSBORN identisch ist (HAGEDORN und HANSON 1951). Das Weißkleemosaikvirus (PIERCE 1935) besitzt trotz mancher Ähnlichkeiten eine wesentlich geringere Temperaturgrenze. Die von JOHNSON (1942) aus diesem Mosaik abgetrennten Komponenten, das pea mottle- und das pea wilt-Virus, wurden ebenfalls bei 60 bzw. 62° inaktiviert, das pea mottle-Virus war darüber hinaus auf mehrere Nichtleguminosen übertragbar. In seinen Eigenschaften weist das AMV Ähnlichkeiten mit dem Luzernemosaikvirus auf (Medicago-Virus 2 K. M. SMITH, *Marmor medicaginis* H.), wobei auch die Neigung des AMV zur Erholung (recovery) auf manchen Wirten an analoge ringspot-ähnliche Erscheinungen beim Luzernemosaikvirus erinnert; dieses weicht jedoch durch seinen bekannten weiten Wirtskreis auch außerhalb der Leguminosen deutlich vom AMV ab. Mit den Strichelviren von Erbse scheint ebenfalls keine nähere Verwandtschaft zu bestehen. Das amerikanische „pea streak"-Virus war nicht auf *Phaseolus vulgaris* und *Lathyrus odoratus* übertragbar und zeigte zudem abweichende Lebensdauer in vitro (ZAUMEYER 1938). Das neuseeländische Erbsenstrichelvirus (CHAMBERLAIN 1939) ließ sich nicht auf *Vicia faba* übertragen, besaß eine höhere Verdünnungsgrenze von 1 : 1 Million und eine Lebensdauer von über 41 Tagen.

Im Laufe der vorliegenden Untersuchungen konnte ich mich der Unterstützung des Bundessortenamtes für Nutzpflanzen in Rethmar sowie zahlreicher Züchter, besonders durch Überlassung von Saatgutproben und Einsendung kranken Pflanzenmaterials, erfreuen. Ein Teil der Arbeit wurde im Rahmen einer ERP-Forschungsbeihilfe des Herrn Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten gefördert. Ihnen danke ich ebenso wie Herrn Oberregierungsrat Dr. KÖHLER für sein Interesse an den Untersuchungen. Bei der Durchführung der Versuche war mir Frau SANDER eine zuverlässige Hilfe.

Zusammenfassung

1. Es wird ein Ackerbohnenmosaikvirus (AMV) beschrieben, das in starkem Maße an der Virusverseuchung von *Vicia faba* in Deutschland beteiligt ist. Das Symptombild umfaßt unterschiedliche Mosaikzeichnung, Blattkräuselung, Stauchung und Welke und wird an Ackerbohne und anderen Wirtspflanzen näher dargestellt.

2. Das Virus hat einen umfangreichen Wirtspflanzenkreis innerhalb der Leguminosen. Positive Saftübertragungen gelangen außer

auf *Vicia faba* var. *minor* und *major* noch auf *Cicer arietinum, Lathyrus odoratus, L. sativus, L. tingitanus, Lens esculenta, Lupinus albus, Melilotus albus, M. officinalis, Phaseolus vulgaris, Pisum arvense, P. melanocarpum, P. sativum, Trifolium incarnatum, Trigonella coerulea, Vicia hirsuta, V. narbonensis, V. pannonica, V. sativa, V. villosa* und *V. villosa* var. *glabrescens*. Nicht befallen wurden u. a. *Lotus corniculatus, Lupinus luteus, Medicago media, Phaseolus coccineus, Phaseolus lunatus* var. *macrocarpus, Soja max* und *Trifolium hybridum*; unsicher blieb ein Befall auf *Trifolium pratense* und *Trifolium repens*.

3. Übertragungsversuche auf verschiedene Nichtleguminosen wie Tabak, Gurke und *Datura stramonium* blieben ohne Erfolg.

4. Auf Erbse rief das Virus starke Blattverkleinerungen, eine wechselnde Mosaikzeichnung, Kräuselungen, farblose transparente Blattflecken sowie Stengelstauchung hervor, in verschiedenem Grade auch Welke und generelle Nekrose.

5. Das Symptombild auf *Vicia faba*, Erbse, Platterbse und anderen Wirten unterlag jahreszeitlichen Veränderungen, wobei in den Wintermonaten Welkeerscheinungen an Fiederblättern und Triebspitze, teilweise auch generelle Nekrose stärker hervortreten konnten.

6. In einem Testsortiment von 23 *Vicia faba*- und 69 Erbsensorten wurde keine mit deutlicher Widerstandsfähigkeit gegen das AMV gefunden. Auch die gegen verschiedene Viren resistenten Erbsensorten Perfection und Surprise wurden befallen.

7. Bei der Prüfung der physikalischen Eigenschaften des Virus im Preßsaft lag die Grenze der Temperaturtoleranz meist zwischen 66 und 70 °, vereinzelt um 75 ° C; eine Verdünnung wurde bis 1 : 1000, nicht aber 1 : 10 000 ertragen; die Haltbarkeit in vitro betrug mehr als sechs und weniger als sieben Tage; in trockenen Pflanzenteilen blieb das Virus über 15, jedoch keine 20 Tage infektiös.

8. Während die Mehrzahl der Isolate dem beschriebenen starken Normaltyp angehörte, wurden einige abweichende als Mutanten des AMV aufgefaßte Stämme nachgewiesen, deren Symptomausprägung und Infektiosität in verschiedenem Grade abgeschwächt war.

9. Die Zugehörigkeit der Mutanten zum AMV wurde durch Prüfung des Wirtspflanzenkreises und der physikalischen Eigenschaften bestätigt.

10. In Prämunitätsversuchen zeigten die schwachen Mutanten Schutzwirkung gegen nachfolgende Infektion mit einem normal starken Stamm des AMV. Die Viren des gelben Bohnenmosaiks (Bohnenvirus 2) und des gewöhnlichen Erbsenmosaiks (Pisum-Virus 2, K. M. Smith) besaßen keine Schutzwirkung und werden daher nicht als verwandt mit dem untersuchten Virus angesehen.

11. Natürliche Feldinfektionen des AMV wurden außer auf *Vicia faba* noch auf Saatwicke (*Vicia sativa*), Platterbse (*Lathyrus tingitanus*), Erbse und Narbonner Wicke (*Vicia narbonensis*) beobachtet und identifiziert.

12. Die Übertragbarkeit dieses Mosaikvirus mit dem Samen von *Vicia faba* wurde weiter gesichert; Saatgut von kranken Einzelpflanzen lieferte oft zwischen 2,5 und 15 % sameninfizierten Aufwuchs. Kranke Feldherkünfte von Ackerbohnen konnten etwa bis zu 1 %, von Puffbohnen bis 2,8 % Saatgutinfektionen aufweisen. Für die Überwinterung des Virus dürfte die Saatgutübertragung ein praktisch bedeutsamer Faktor sein.

13. Obgleich Freilandbeobachtungen für die Beteiligung von tierischen Überträgern zu sprechen scheinen, ist ein Vektor des AMV noch nicht gefunden.

14. Das Ackerbohnenmosaikvirus ist mit den bisher beschriebenen Viren nicht sicher zu identifizieren und wird daher als *Viciavirus varians* n. sp. beschrieben. Die Krankheit selbst kann zur Unterscheidung von den durch Erbsenviren auf Ackerbohnen hervorgerufenen Mosaikkrankheiten als „Echtes Ackerbohnenmosaik" bezeichnet werden, da *Vicia faba* als Hauptwirt des neuen Virus anzusehen ist.

Literaturverzeichnis

(Die mit * versehenen Arbeiten konnten nicht im Original eingesehen werden)

AINSWORTH, G. C., 1940: The identification of certain viruses found infecting leguminous plants in Great Britain. Ann. Appl. Biol. **27**, 218—226.

BAWDEN, F. C., CHAUDHURI, R. P., and KASSANIS, B., 1951: Some properties of broad-bean mottle virus. Ann. Appl. Biol. **38**, 774—784.

BÖNING, K., 1927: Die Mosaikkrankheit der Ackerbohne (*Vicia faba* L.). Ein Beitrag zu dem Mosaik der Papilionaceen. Forsch. Geb. Pflanzenkrank. Immunität i. Pflanzenreich **4**, 43—111.

CHAMBERLAIN, E. E., 1939: Pea streak (Pisum virus 3). New Zealand Jour. Sci. and Techn. **20**, 365 A—381 A.

D'OLIVEIRA, M. DE L., 1946: O „mosaico" de Faveira e suas relacões com outras Leguminosas. Broteria **15**, 90—94.*

DELLE COSTE, A. C., OFFERMANN, A. M. und ZABALA, S., 1948: Determinación de los virus del Haba en cultivos de los alrededores de la ciudad de Buenos Aires. Rev. Invest. agric. B. Aires **2**, 81—88.*

FUKUSHI, T., 1930: On the mosaic disease of broad bean. (Japanisch) Jour. Plant Protect. **17**, 701—712, 779—784.*

GIGANTE, R., 1937: Il mosaico della Fava (*Vicia faba* L.) in Italia e comportamento di alcune Leguminose de fronte ad esso. Boll. R. Staz. Pat. veg., Roma, n. s. **17**, 497—530.

Hagedorn, D. J., 1951: The reaction of Perfection-type peas to Wisconsin bean virus 2 isolates from pea. Phytopath. **41**, 494—498.

— — and Hanson, E. W., 1951: A comparative study of the viruses causing Wisconsin pea stunt and red clover vein mosaic. Phytopath. **41**, 813—819.

Hubbeling, N., 1946: Ziektebestrijding en gezondheidsselectie bij tuinboonen. Meded. N. A. K.-G., 96 u. 103.

Imai, Y., 1934: Studies on the transmission of broad bean mosaic. Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. **13**, 241—245.*

Johnson, Folke, 1942: The complex nature of white-clover mosaic. Phytopath. **32**, 103—116.

— — and Jones, L. K., 1937: Two mosaic diseases of peas in Washington. J. Agric. Res. **54**, 629—638.

Köhler, E., 1943: Über einige Probleme der allgemeinen Viruspathologie der Pflanzen. Mitt. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bln., H. 67, 31—46.

Kunkel, L. O., 1934: Studies on acquired immunity with tobacco and aucuba mosaics. Phytopath. **24**, 437—466.

Merkel, L., 1929: Beiträge zur Kenntnis der Mosaikkrankheit der Familie der Papilionaceen. Ztschr. f. Pflanzenkrankh. **39**, 289—347.

Meulen, J. G. van der, 1928: Voorlopig onderzoek naar de specialisatie en de infectiebronnen der mosaiekziekten van landbouwgewassen. Tijdschr. Plantenz. **34**, 155—176.

Murayama, D., 1938: Physico-chemical properties of the virus of broad bean mosaic. Jour. Fac. Agric. Hokkaido Imp. Univ. **44**, 1—32.*

Osborn, H. T., 1937: Studies on the transmission of pea virus 2 by aphids. Phytopath. **27**, 589—603.

Pierce, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopath. **24**, 87—115.

— —, 1935: The identification of certain viruses affecting leguminous plants. Journ. Agr. Res. (U. S.) **51**, 1017—1039.

Quantz, L., 1950: Beobachtungen zur Samenübertragbarkeit eines Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba* L.). Nachrbl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **2**, 172—173.

— —, 1952 a: Untersuchungen über das Erbsenvirus 1 („Enation"-Mosaik-Virus). I. Seine Wirtspflanzen, Ausbreitung und Überwinterung. Nachrbl. dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **4**, 24—27.

— —, 1952 b: Untersuchungen über die Mosaikkrankheiten der Ackerbohne (*Vicia faba*). Jahresber. Biol. Bundesanst. f. Land- u. Forstwirtsch. Braunschweig **1951**, 40.

Smith, K. M., 1937: A textbook of plant virus diseases. London: J. & A. Churchill.

— —, 1949: Viruses and virus diseases. J. R. hor. Soc. **74**, 482—491, 521—528.

Stubbs, L. L., 1947: A destructive vascular wilt virus of Broad Bean (*Vicia faba* L.) in Victoria. J. Dep. Agric. Vict. XIV. 7, 323.*

Stubbs, Merl W., 1937: Certain viroses of the garden pea, *Pisum sativum*. Phytopath. **27**, 242—266.

Weiss, Freeman, 1945: Viruses described primarily on leguminous vegetable and forage crops. Plant Disease Reporter, Supplement 154.

Yu, T. F., 1939: Mild-mosaic virus of broad bean. Phytopath. **29**, 448—455.

— —, 1947: Spotted wilt of broad bean. Phytopath. **37**, 191—192.

Zaumeyer, W. J., 1938: A streak disease of peas and its relationship to several strains of alfalfa mosaic virus. Jour. Agr. Res. (U. S.) **56**, 747—772.

— —, 1940: Three previously undescribed mosaic diseases of pea. Jour. Agric. Res. 60, 433—452.

— —, and Wade, B. L., 1935: The relationship of certain legume mosaics to bean. Jour. Agr. Res. (U. S.) **51**, 715—749.

— —, — —, 1936: Pea mosaic and its relation to other legume mosaic viruses. Journ. Agr. Res. **53**, 161—185.

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen

Von

Ernst Gäumann und Stephi Naef-Roth

Mit 4 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kapitel. Die Arbeitsmethode. — 2. Kapitel. Die Ergebnisse. — 3. Kapitel. Die mutmaßliche Ursache der jahreszeitlichen Schwankung der Toxinempfindlichkeit. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die Anfälligkeit des Menschen für gewisse Infektionskrankheiten verläuft zyklisch; so flammt in Mitteleuropa die Grippe alljährlich im Vorfrühling auf und erlischt dann wieder gegen den Sommer hin (Abb. 1). Das Kontagium darf bei der Grippe jahraus, jahrein als allgegenwärtig vorausgesetzt werden; der jahreszeitliche Gang der Grippehäufigkeit muß deshalb durch exogene Faktoren gesteuert werden, welche die Erkrankungsbereitschaft des Wirtes saisonmäßig verschieben. Eine derartige erhöhte Disposition dürfte vor allem durch eine jahreszeitliche Mangelernährung (zyklische Avitaminose) und durch eine jahreszeitlich bedingte Zunahme der Erkältungen geschaffen werden.

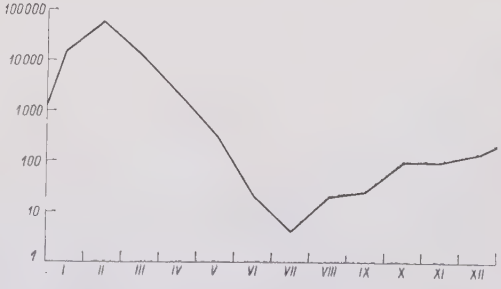


Abb. 1. Die Grippehäufigkeit in der Schweiz während des Jahres 1951, nach den Erhebungen des Eidg. Gesundheitsamtes in Bern.
Abszisse: Kalendermonate.
Ordinate: Zahl der gemeldeten Grippefälle in logarithmischer Abtragung

Ähnliche zyklische Epidemien sind auch bei gewissen pflanzlichen Infektionskrankheiten bekannt (z. B. Gäumann, 1951). Über die Ursachen ihres zyklischen Auftretens wissen wir wenig. Doch scheint ein Faktor in einer

jahreszeitlich verschiedenen Empfindlichkeit des Wirtes für die vom Erreger ausgeschiedenen Toxine zu bestehen; denn wir machten bei unseren Untersuchungen über die pflanzlichen Welkekrankheiten die Beobachtung, daß die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen, die wir in unseren Gewächshäusern unter möglichst gleichartigen Bedingungen aufzogen, im Verlaufe eines Jahres schwankt. Diesen jahreszeitlichen Verlauf der Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen an e i n e m Beispiel zahlenmäßig zu erfassen, ist der Inhalt der vorliegenden Arbeit.

1. Kapitel. Die Arbeitsmethode

Tomatenpflanzen der Sorte Tuckswood wurden monatlich in einem bestimmten Gewächshaus in sterilisierter Erde von derselben Zusammensetzung ausgesät und aufgezogen. Unser Versuchsmaterial ist somit in Sorte und Alter gleichförmig, und es ist auch, soweit möglich, unter optimalen Bedingungen hinsichtlich Ernährung, Luftfeuchtigkeit, Lebenslage („Gewächshausklima") usw. heranwachsen. Die Lufttemperatur wurde auf rund 23 bis 25 ° C gehalten; einzig an sonnigen Juli- und Augusttagen stieg sie während einiger Stunden noch weiter an; doch erwuchsen daraus für unsere Versuche keine Schwierigkeiten, da die Toxinempfindlichkeit der Tomatensprosse in jenen Monaten, wie wir sehen werden, ein Minimum durchläuft.

Der einzige variable Faktor in der Heranzucht der Versuchspflanzen ist somit das L i c h t. Im Hochsommer erreicht es im Innern der Gewächshäuser wohl eine nahezu optimale Stärke; im Frühjahr und Herbst ist es dagegen deutlich suboptimal, und während der Wintermonate mit ihren Hochnebeln liegt es in unserem Klima unterhalb des Minimums; deshalb wurde während dieser Zeit zusätzlich eine künstliche Belichtung mit Neon-Gasentladungslampen eingeschaltet.

Etwa alle vier Wochen wurde von 40 Pflanzen, die eine Höhe von 20 bis 30 cm erreicht hatten (Alter ein bis zwei Monate), der Gipfeltrieb samt den obersten vier Blättern mittels einer Rasierklinge abgeschnitten und auf einer automatischen Waage gewogen. 20 Sprosse erhielten sogleich 150 mg Lycomarasmin je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar verabreicht, wobei die Aufnahme im Licht (zwei je 1 m lange Fluoreszenzlampen in 60 cm Abstand) bei 20 bis 21 ° C und bei 55 bis 70 % rel. Feuchtigkeit erfolgte. Die anderen 20 Sprosse wurden nach dem Abschneiden zunächst für 24 Stunden in Leitungswasser gestellt und erst dann mit der genannten Toxinmenge versehen.

Es liefen somit jeden Monat zwei Serien nebeneinander her, eine Serie mit Toxinaufnahme unmittelbar nach dem Abschneiden der Sprosse und eine Serie mit Toxinaufnahme nach 24stündiger Akklimatisierung der Sprosse. Diese zeitliche Staffelung der Toxinaufnahme erfolgte aus dem Grunde, weil die Sprosse durch das Abschneiden eine traumatische Sensibilisierung ihrer Empfindlichkeit für Lycomarasmin erfahren (GÄUMANN und NAEF-ROTH,

1953, S. 138). Wir mußten deshalb vermeiden, daß das Phänomen der traumatischen Sensibilisierung den von uns zu prüfenden jahreszeitlichen Gang der Toxinempfindlichkeit verwischte.

Nach Aufnahme der vorgesehenen Giftmenge wurden die Sprosse in frisches Leitungswasser zurückgebracht und weiterhin in dem soeben geschilderten Versuchsraum im Lichte belassen. Nach 48 Stunden wurden die Welkesymptome in den Stufen von 0 bis 4 (Gäumann, Naef-Roth und Miescher, 1950) gesondert für jedes Blatt abgelesen. Am Schlusse des Versuchsjahres wurden die 80 Einzelwerte jedes Versuches (je vier Blätter von je 20 Versuchspflanzen) gemittelt; hernach wurde die Streuung nach Linder (1951) berechnet.

2. Kapitel. Die Ergebnisse

Die hier zu besprechenden Versuche liefen vom November 1950 bis zum Oktober 1951. Um die Darstellung nicht zu überlasten, beschränken wir uns auf die Ergebnisse, die mit akklimatisierten Tomatensprossen gewonnen wurden; die Versuche mit frisch abgeschnittenen Sprossen verliefen gleichsinnig, zeigten aber etwas größere Schwankungen.

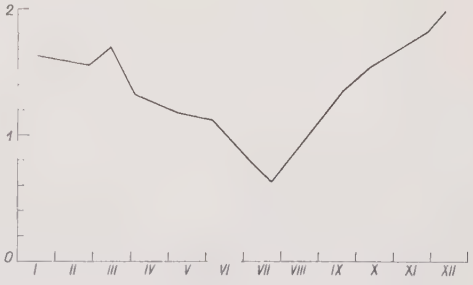


Abb. 2. Der jährliche Gang der Lycomarasminempfindlichkeit der Tomatenpflanzen.
Abszisse: Datum des Versuches.
Ordinate: Durchschnittliche Intensität der Schädigung nach 48 Stunden in der Abstufung 0 (keine Schädigung) bis 4 (völlige Nekrose)

Tabelle 1

Die Welke-Intensität der Tomatensprosse in den verschiedenen Jahreszeiten bei gleicher Toxingabe

(150 mg Lycomarasmin je kg Frischgewicht)

Das Toxin wurde nach einer 24stündigen Akklimatisierung der Sprosse verabreicht

Datum des Schnittes	Welke-Intensität	Datum des Schnittes	Welke-Intensität
27. November 1950	1,83 ± 0,14	7. Mai 1951	1,18 ± 0,46
12. Dezember 1950	2,00 ± 0,26	4. Juni 1951	1,13 ± 0,32
15. Januar 1951	1,63 ± 0,23	4. Juli 1951	0,81 ± 0,27
27. Februar 1951	1,56 ± 0,30	23. Juli 1951	0,64 ± 0,38
14. März 1951	1,70 ± 0,32	19. September 1951	1,35 ± 0,44
2. April 1951	1,33 ± 0,22	10. Oktober 1951	1,57 ± 0,24

Die Mittelwerte und Streuungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Sie wurden überdies in Abb. 2 graphisch veranschaulicht; doch haben wir, um den jahreszeitlichen Gang besser hervorzuheben, die Abb. 2 nicht vom No-

vember bis zum folgenden Oktober (so wie die Versuche in Wirklichkeit durchgeführt wurden) laufen lassen, sondern vom Januar bis zum Dezember, indem wir die am 27. November und am 12. Dezember 1950 gemessenen Punkte nach dem 10. Oktober 1951 anfügten.

Tabelle 1 und Abb. 2 lassen erkennen, daß die Lycomarasminempfindlichkeit der Tomatensprosse einen jahreszeitlichen Zyklus durchläuft, mit einem Maximum im Dezember und einem Minimum im Hochsommer. Die Lycomarasminempfindlichkeit ist im Dezember ceteris paribus etwa dreimal so hoch wie im Juli. Die eingangs gestellte Frage, ob es auch im Pflanzenreich, wie beim Menschen, einen zyklischen Gang der Erkrankungsbereitschaft gebe, ist deshalb, soweit die Sensibilität von Tomatenpflanzen für Lycomarasmin in Frage kommt, zu bejahen. Ob die Sensibilität der Tomatenpflanzen auch für andere biogene Toxine einen jahreszeitlichen Gang aufweist, muß erst noch geprüft werden.

Dabei müssen wir uns aber bewußt bleiben, daß die Kurve der Abb. 2 nicht unmittelbar den unter praktischen Verhältnissen zu erwartenden jahreszeitlichen Gang der Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen wiedergibt; denn die Zahlen der Abb. 2 gelten ausschließlich für die Toxinempfindlichkeit junger Individuen. Die Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen durchläuft jedoch einen ontogenetischen Zyklus (GÄUMANN und NAEF-ROTH, 1950) und ist in der Jugend und im Alter geringer und zur Zeit der Blühreife am höchsten. Unter praktischen Verhältnissen überlagern sich somit zwei unterschiedliche Zyklen der Toxinempfindlichkeit, der ontogenetische Rhythmus von Jugend, Reife und Alter und der jahreszeitliche Rhythmus der Abb. 2, und wir wissen nicht, wie sich die Resultante aus diesen zwei Komponenten gestaltet.

In ähnlicher Weise müssen wir uns bewußt bleiben, daß die Kurve der Abb. 2 nicht unmittelbar auf Freiland-Tomatenpflanzen übertragen werden darf; denn unsere Versuchspflanzen sind nicht unter den natürlichen Verhältnissen des Freilandes herangewachsen, sondern im Gewächshaus, also der natürlichen Umwelt entzogen; der durch die Abb. 2 ausgewiesene Zyklus der Erkrankungsbereitschaft bezieht sich deshalb in erster Linie auf den Zustand der Domestikation, ähnlich wie der ausgeprägte Kurvenverlauf der Abb. 1 wohl nur für den domestizierten Menschen gilt.

Abb. 2 besagt also zunächst nur, daß Tomatenpflanzen, die unter den künstlich geschaffenen Milieubedingungen des Gewächshauses aufgezogen wurden, in ihrer Empfindlichkeit für ein Toxin eines ihrer wichtigsten Krankheitserreger einen jahreszeitlichen Zyklus durchlaufen. Damit ist aber für das Problem der Gewächshauskrankheiten schon allerhand gewonnen; denn der Praktiker weiß, daß seine Gewächshauspflanzen in gewissen Jahreszeiten leichter erkranken als in anderen; und Abb. 2 beweist nunmehr zahlenmäßig, daß eine Ursache dieser unterschiedlichen Erkrankungsbereitschaft in gewissen Fällen in einer jahreszeitlich verschiedenen

Empfindlichkeit für die Toxine gewisser Krankheitserreger liegt.

Doch wird im Prinzip der Kurvenverlauf der Abb. 2 auch für Freiland-Tomatenpflanzen gelten. Die Gewächshäuser sind ja nur für einen Teil der Umweltfaktoren, so für Temperatur, Feuchtigkeit und Wind, aus dem natürlichen Zusammenhang herausgelöst; bei anderen Faktoren, so für Lichtmenge, Lichtqualität und Photoperiodizität (Langtag—Kurztag), machen sie den jahreszeitlichen Gang in einer ähnlichen Weise mit wie die natürliche Umwelt, nur abgeschwächt, gewissermaßen „filtriert".

Immerhin möchten wir vermuten, daß bei Freilandpflanzen die jahreszeitlichen Schwankungen der Toxinempfindlichkeit erheblich kleiner sind als bei den Gewächshauspflanzen der Abb. 2. Einmal deshalb, weil in unserem Klima von vornherein nur ein kleiner Ausschnitt aus Abb. 2 zur Verwirklichung gelangt; unsere Vegetationszeit beschränkt sich ja, vom pflanzenpathologischen Standpunkt aus betrachtet, auf den Zeitabschnitt zwischen Mitte April und Ende September; die Welkeintensität schwankt jedoch in Tabelle 1 während dieser Zeit nur zwischen 0,64 und 1,35, also nur um rund 0,7 Einheiten, während sich die ganzjährige Schwankung zwischen 0,64 und 2,0, also in rund doppelter Breite bewegt.

Sodann möchten wir vermuten, daß einige Faktoren, die unter Gewächshausbedingungen künstlich eliminiert werden, in der freien Natur der Toxinempfindlichkeit der Tomatenpflanzen entgegenwirken, weil sie die Pflanzen irgendwie stimulieren oder irgendwie abhärten. Wir denken hier vor allem an den tageszeitlichen Gang der Temperatur (Tagestemperatur—Nachttemperatur). Guayule (*Parthenium argentatum*) bildet je 100 g Gewichtszunahme 0,67 g Rubber, wenn die Pflanzen, wie unsere Tomatenpflanzen der Abb. 2, Tag und Nacht bei derselben Temperatur gehalten werden (in diesem Falle bei 26 bis 27 ° C), wogegen sie 14,9 g Rubber, also 22mal so viel bilden, wenn die Tagestemperatur 26 bis 27 ° und die Nachttemperatur 7 ° beträgt (Bonner, 1943).

Einen ähnlichen, wenn auch weniger ausgeprägten stimulierenden Einfluß übt der Temperaturwechsel auch auf die Tomatenpflanzen aus. Wird die Lufttemperatur auf konstant 26 bis 27 ° C gehalten, so beträgt ihr durchschnittlicher Längenzuwachs 23,1 mm in 24 Stunden. Wird die Lufttemperatur auf konstant 19 bis 20 ° gehalten, also bloß um 7 ° niedriger, so beträgt der durchschnittliche Längenzuwachs 19,5 mm. Und wechselt die Temperatur zwischen 26 bis 27 ° bei Tag und 19 bis 20 ° bei Nacht, so beträgt der durchschnittliche Längenzuwachs 27,1 mm; er ist also größer als bei konstant 26 bis 27 ° oder konstant 19 bis 20 ° (Went, 1944). Die Pflanzen brauchen somit für ihr biologisches Gleichgewicht gewisse thermoperiodische Schwankungen, und man kann sich vorstellen, daß die Gewächshaus-Tomatenpflanzen der Abb. 2 eben deshalb einen überbetonten jahreszeitlichen Gang der Toxinempfindlichkeit zeigen, weil sie den „kräftigenden" thermoperiodischen Schwankungen entzogen waren. Doch müßte die Tragweite all dieser Wenn und Aber erst noch durch besondere Versuche festgestellt werden.

3. Kapitel. Die mutmaßlichen Ursachen der jahreszeitlichen Schwankungen der Toxinempfindlichkeit

Die Ursachen der durch die Abb. 2 ausgewiesenen Schwankungen in der Toxinsensibilität der Tomatenpflanzen können in endogenen Faktoren liegen, so in einem autonomen jahreszeitlichen Rhythmus der Tomatenpflanzen, oder in exogenen Faktoren, so in einer zyklischen Schwankung der Lichtintensität oder in einem Zusammenwirken endo- und exogener Komponenten.

a) Die Möglichkeiten eines endogenen jahreszeitlichen Rhythmus der Tomatenpflanzen

Endogene jahreszeitliche Rhythmen sind bei mehrjährigen Pflanzen, so bei Bäumen, wiederholt festgestellt worden (z. B. BÜNNING, 1949). Für die vegetativen Partien krautiger Pflanzen sind dagegen derartige Rhythmen nicht bekannt; einzig die Keimfähigkeit ihrer Samen folgt wegen der gestaffelten Nachreife gelegentlich einer inneren Gesetzmäßigkeit, die wahrscheinlich mit Änderungen des Kolloidzustandes der Samen in Beziehung steht (BÜNNING und BAUER, 1952) und in ihrer Auswirkung einen jahreszeitlichen Rhythmus vortäuschen kann; so wurden in Abb. 3 die Früchte von *Bellis perennis* nach der Ernte im Thermostaten bei etwa 35 ° C aufbewahrt und Monat für Monat zum Keimen angesetzt; nach Ablauf der obligaten Samenruhe stieg die Keimfähigkeit während etwa fünf Monaten sukzessive an und flaute nach Überschreiten eines Höhepunktes allmählich wieder ab.

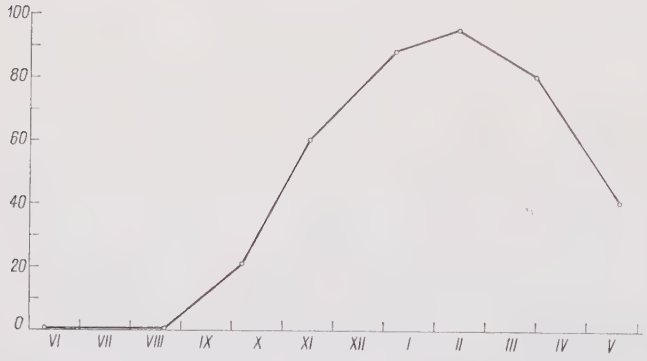


Abb. 3. Der endogene Keimungsrhythmus der Früchte von *Bellis perennis*.
Abszisse: Datum der Prüfung der Keimfähigkeit in den Monaten nach der Ernte.
Ordinate: Prozentuale Keimfähigkeit.
(Nach BÜNNING, 1948)

Derartige endogene Schwankungen in der Keimungsbereitschaft der Samen können naturgemäß die Vitalität der aus ihnen gezogenen Versuchspflanzen und dadurch indirekt ihre Toxinempfindlichkeit beeinflussen. Doch glauben wir nicht, daß dieses Moment bei unserem Tomatenmaterial eine Rolle spielt; denn es ließen sich bei den zwölf Aussaaten des Versuchsjahres 1950/51 keinerlei Verschiedenheiten in der Keimungswilligkeit des Saatgutes und im Keimungsverlauf erkennen.

Die Möglichkeit einer endogenen keimungsrhythmischen Störung darf deshalb als Ursache des besonderen Kurvenverlaufes der Abb. 2 ausgeschlos-

sen werden. Das auslösende Moment dieses Kurvenverlaufes muß somit in exogenen Einflüssen liegen.

b) Die exogenen jahreszeitlichen Einflüsse

Jahreszeitliche klimatische Einflüsse sind ihrer Natur nach vieldimensional; doch scheint im Rahmen der Gewächshauskultur nur der Lichtfaktor ins Gewicht zu fallen, insbesondere die Photoperiodizität (Langtag—Kurztag) und die Lichtmenge (Quantität und Qualität des eingestrahlten Lichtes).

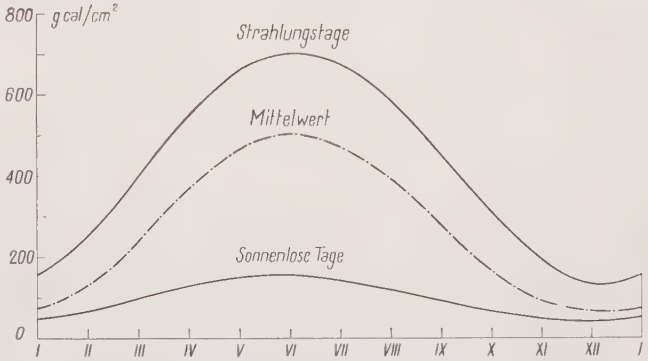


Abb. 4. Der jährliche Gang der Globalstrahlung (Sonnen- + Himmelsstrahlung) in Zürich.

Ordinate: Durchschnittliche Summe der gesamten Einstrahlung auf eine horizontale Fläche in Grammkalorien je cm².

Original W. Mörikofer, Physikalisch-meteorologisches Observatorium, Davos

Tomatenpflanzen sind photoperiodisch indifferent (Went, 1945); deshalb bleibt im vorliegenden Zusammenhange nur die Menge der eingestrahlten Sonnenenergie zu berücksichtigen.

Ihr jahreszeitlicher Gang ist in Abb. 4 dargestellt. Nehmen wir an, daß die eingestrahlte solare Energie durch die Glasscheiben des Gewächshauses stets ungefähr in derselben Proportion abfiltriert wird, so erhalten die Versuchspflanzen des Dezember nur rund 12 % der solaren Energie zugeführt, die den Juni-Pflanzen zufiel. In Wirklichkeit war ihr Lichtgenuß wegen der zusätzlich eingeschalteten künstlichen Belichtung etwas größer; doch bleibt die Tatsache bestehen, daß die unseren Versuchspflanzen zur Verfügung stehende Lichtenergie während der Wintermonate am Rande des Existenzminimums lag.

Der Wirkungsgrad dieser winterlichen Depression der eingestrahlten Lichtenergie wurde zweifelsohne noch durch den Umstand erhöht, daß die Lufttemperatur im Innern des Gewächshauses auch während der Wintermonate 23 bis 25 ° C betrug; dadurch entstand eine ausgeprägte Disproportion zwischen geringer Lichtmenge und hoher Lufttemperatur, wodurch das Gewicht der unzureichenden Lichtmenge offenbar noch verstärkt wurde.

Nun haben Foster und Walker (1947) gezeigt, daß der präinfektionelle Lichtgenuß die Anfälligkeit der Tomatenpflanzen für das *Fusarium lycopersici* erheblich verschiebt. Wird nämlich die eingestrahlte Lichtenergie von 100 auf 11 % gedrosselt, so steigt der Krankheitsindex bei der Sorte Marglobe nach 24 Tagen von 35 auf 76, also auf rund den doppelten Betrag (Gäumann,

1951, Abb. 379 und 380). Diese unterschiedliche Erkrankungsbereitschaft der Tomatenpflanzen setzt sich ihrerseits aus zwei Komponenten zusammen, aus der unmittelbaren Anfälligkeit der Pflanzen für den Erreger und aus ihrer Sensibilität für die von ihm produzierten Toxine. Die Kurve der Abb. 2 spiegelt den jahreszeitlichen Verlauf dieser zweiten Komponente wider.

Welches mögen die stofflichen Grundlagen der jahreszeitlichen Schwankungen der Lycomarasminempfindlichkeit der Tomatenpflanzen sein?

Bei einem anderen Beispiel einer jahreszeitlichen Schwankung, nämlich beim jahreszeitlichen Gang der Vermorschbarkeit des Fichten- und Tannenholzes, liegen die stofflichen Grundlagen im unterschiedlichen Wuchsstoffgehalt des Holzes. Der jahreszeitliche Zyklus der Vermorschbarkeit des Fichten- und Tannenholzes ist nämlich nicht mit der Vegetationszeit, sondern mit der Jahresringbildung korreliert; also muß er irgendwie mit dem Wuchsstoffgehalt der Bäume in Beziehung stehen (GÄUMANN, 1932); und in der Tat ist seither gezeigt worden, daß einige der damals geprüften Pilze, so *Merulius domesticus*, Wuchsstoff- (z. B. Aneurin-) heterotroph und deshalb vollständig auf den Wuchsstoffgehalt des Substrates angewiesen sind (KÜHLWEIN und ZOBERST, 1953). Der hohe Wuchsstoffgehalt des Holzes bei Frühjahrs- und Sommerfällung begünstigt deshalb einerseits die vegetative Entwicklung der Vermorschungspilze, und andererseits erhöht er auch die Abbaufähigkeit des Holzes, weil offenbar das Zellulose-Mizellargerüst zu Zeiten hohen Wuchsstoffgehaltes stärker gequollen und dadurch den abbauenden Enzymen der Vermorschungspilze leichter zugänglich ist.

Ebenfalls im Wuchsstoffsektor scheint eine der Ursachen der jahreszeitlich schwankenden Grippe-Anfälligkeit in Abb. 1 zu liegen, nämlich in einer zyklischen Avitaminose der Bevölkerung infolge eines jahreszeitlichen Mangels z. B. an Ascorbinsäure (Vitamin C) in unserer Nahrung. Es wäre vielleicht möglich, die Grippekurve der Abb. 1 unmittelbar mit einer Kurve des im Laufe eines Jahres zyklisch schwankenden Ascorbinsäuregehaltes unserer Nahrung zu korrelieren.

Wir halten es deshalb nicht für ausgeschlossen, daß auch beim Kurvenverlauf der Abb. 2 gewisse Mechanismen aus der Nähe des Wuchsstoffsektors mitbeteiligt sind. Der Gehalt der grünen Pflanzen z. B. an Ascorbinsäure schwankt ja mit ihrem Lichtgenuß. In einem bestimmten Falle betrug der Ascorbinsäuregehalt von *Medicago sativa* um Mitternacht 1,07 g je kg Frischgewicht, morgens um 4 Uhr 1,20 g, um 5 Uhr schon wieder 1,79 g und um Mittag 2,54 g (GIROUD, 1938). Ähnliche Beziehungen zwischen Lichtgenuß und Ascorbinsäuregehalt wurden bei *Triticum repens*, *Viola tricolor* usw. festgestellt; somit steht nichts der Annahme entgegen, daß auch der Wuchsstoffgehalt der Tomatenpflanzen mit dem jahreszeitlichen Gang der Einstrahlungskurve in Abb. 4 zyklisch schwankt.

Wir glauben zwar nicht, daß der Ascorbinsäuregehalt der Tomatenpflanzen einen unmittelbaren Resistenzfaktor gegen das Lycomarasmin darstellt; für einen anderen Wuchsstoff, Strepogenin, ist zwar bekannt, daß er Lycomarasmin in einem gewissen Ausmaß zu inaktivieren vermag (Woolley, 1949; Gäumann, Naef-Roth und Reusser, 1950); doch können wir uns für Ascorbinsäure keinen analogen antagonistischen Mechanismus vorstellen. Wir möchten deshalb beim heutigen Stand unserer Kenntnisse nur vermuten, daß die unterschiedliche Lycomarasminempfindlichkeit der Tomatenpflanzen in Abb. 2 durch einen ähnlichen, durch den Lichtgenuß gesteuerten Mechanismus, wie er dem Kohlehydrat-Ascorbinsäure-Sektor zugrunde liegt, gesteuert wird.

Zusammenfassung

Die Lycomarasminempfindlichkeit von Tomatenpflanzen, die im Gewächshaus unter gleichartigen Bedingungen herangezogen wurden, schwankt im Laufe eines Jahres, und zwar in einem ähnlichen Rhythmus wie in der Humanmedizin die Häufigkeit der Grippefälle in Mitteleuropa; sie ist im Dezember ceteris paribus etwa dreimal so hoch wie im Juli. Es wird vermutet, daß diese zyklische Schwankung der Lycomarasminempfindlichkeit mit dem unterschiedlichen Lichtgenuß der Pflanzen in Beziehung steht und vielleicht durch einen ähnlichen Mechanismus gesteuert wird wie die jahreszeitlichen Schwankungen des Ascorbinsäuregehaltes der grünen Pflanzen.

Literaturverzeichnis

Bonner, J., 1943: Effects of temperature on rubber accumulation by the guayule plant. Bot. Gaz. **105**, 233—243.

Bünning, E., 1948: Zur Kenntnis der endogenen Jahresrhythmik im Samen. Die Naturwiss. **34**, 221.

— —, 1949: Jahres- und tagesperiodische Vorgänge in der Pflanze. Studium generale **2**, 73—78.

— — und Bauer, E. W., 1952: Über die Ursachen endogener Keimfähigkeitsschwankungen in Samen. Ztschr. f. Bot. **40**, 67—76.

Foster, R. E. und Walker, J. C., 1947: Predisposition of tomato to Fusarium wilt. Journ. agr. Res. **74**, 165—185.

Gäumann, E., 1932: Der Einfluß der Fällungszeit auf die Dauerhaftigkeit des Fichten- und Tannenholzes. Angewandte Bot. **14**, 387—411.

— —, 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— — und Naef-Roth, St., 1950: Über die unterschiedliche biologische Wertigkeit junger Gewebe von verschieden alten Pflanzen. Phytopath. Ztschr. **17**, 233—239.

— —, — —, 1953: Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. Phytopath. Ztschr. **20**, 133—166.

— —, — —, 1953: D'un cycle annuel de la sensibilité des tomates aux toxines. C. r. Ac. sc. Paris **236**, 170—172.

— —, — — und Miescher, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Ztschr. **16**, 257—288.

— —, — — und Reusser, P., 1950: Über die Inaktivierung von Lycomarasmin durch Strepogenin. Phytopath. Ztschr. **17**, 229—232.

Giroud, A., 1938: L'acide ascorbique dans la cellule et les tissus. Protoplasma-Monographien **16**, 187 S.

Kühlwein, H. und Zoberst, W., 1953: Zur Frage des Wuchsstoffbedarfes und der Wuchsstoffsynthese von *Merulius lacrymans domesticus* Falck. Arch. f. Mikrobiol. **18**, 273—288.

Linder, A., 1951: Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 238 S.

Went, F. W., 1944: Plant growth under controlled conditions. II. Thermoperiodicity in growth and fruiting of the tomato. Amer. Journ. Bot. **31**, 135—150.

— —, 1945: Plant growth under controlled conditions. V. The relation between age, light, variety and thermoperiodicity of tomatoes. Amer. Journ. Bot. **32**, 469—479.

Woolley, D. W., 1949: Some applications of antagonism between structurally similar compounds to studies of infectious diseases. Report of Proceed., 4. internat. Congress for Microbiology, Copenhagen, 1947, S. 108.

Besprechungen

Stevens, Neil und Stevens, Russel B., Disease in Plants. An Introduction for Agricultural Phytopathology. 220 Seiten mit 61 Abbildungen. Waltham, Mass., The Chronica Botanica Company, 4,75 Dollar.

Von den beiden Verfassern, Vater und Sohn Stevens, ist der erstgenannte 1949, also etwa drei Jahre vor dem Erscheinen des Werkes gestorben; der Sohn Russel Stevens hat das gemeinschaftlich begonnene Werk zu Ende geführt.

Das vorliegende Buch ist als Band I des „Manual of the Plant Science" erschienen und soll eine allgemeine Einleitung in die landwirtschaftliche Phytopathologie sein. Nach der von dem zweiten Verfasser stammenden Vorrede wendet sich das Buch nicht nur an Studierende und Phytopathologen, sondern darüber hinaus auch an andere Kreise, zunächst Farmer und Lehrer, für die Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz irgendwie von Bedeutung und Interesse sein können, schließlich aber auch an den großen Verbraucherkreis pflanzlicher Produkte, also letzten Endes an die gesamte Bevölkerung. Das Buch soll eine für weite Leserkreise in gleicher Weise geeignete Plattform abgeben und will sich deshalb nicht in Einzelheiten verlieren, die nur für einen ganz bestimmten und verhältnismäßig engen Kreis von Wichtigkeit sein können. Es ist also kein Lehrbuch, sondern soll einen mehr schlaglichtartigen Einblick in Wesen und Hauptprobleme der Phytopathologie geben. So kommt es zu der gewählten Darstellung, insbesondere zu der immer wieder hervortretenden eigenartigen Mischung von kurzen, zusammenfassenden Ausführungen mit ausführlichen Darlegungen moderner Forschungsergebnisse der letzten Zeit. In den ersten beiden Kapiteln finden wir nach volkswirtschaftlichen Ausführungen über die Bedeutung der Pflanzenkrankheiten eine botanische Darlegung der Hauptgewebe des Pflanzenkörpers und ihrer verschiedenartigen Beeinflussung durch pflanzliche Krankheitserreger. Hieran schließen sich unvermittelt als drittes Kapitel die Virosen. Nach einem kurzen Überblick über das Wesen dieser Krankheiten werden bei der Besprechung der Vermehrung der Viruserreger die neuen Untersuchungen über das Wesen von Bakterienviren und die Mutation der Viren, anschließend ein Spezialabschnitt über die Virusübertragung durch Cuscuta und schließlich eine Übersicht über die Übertragungsmöglichkeiten der Tabakvirosen auf die verschiedenen Familien des Pflanzenreiches gebracht.

Das Buch ist in 20 Kapitel gegliedert, von denen jedes einzelne etwa dem Umfang und Inhalt einer Vorlesung entspricht, in sich abgeschlossen ist und am Schluß eine eigene Literaturzusammenstellung bringt. Die Aneinanderreihung weitgehend selbständig nebeneinanderstehender Essays erklärt die folgende, zunächst etwas fremdartig anmutende Reihenfolge der einzelnen Kapitel:

1— 2: Pflanzen, Pflanzenkrankheiten und wirtschaftliche Bedeutung; Wirkung der Pflanzenkrankheiten.

3— 6: Ursachen der Pflanzenkrankheiten: 3. Virosen, 4. Bakterien und Pilze, 5. Parasitäre höhere Pflanzen, Nematoden und Insekten, 6. Ernährungsfaktoren, Klima und Schädigungen durch chemische Stoffe.

7—12: Abhängigkeit parasitärer Erkrankungen von anderen Faktoren: 7. Der Wirt, 8. Die Krankheitserreger, 9. Klima und Boden, 10. Insekten, 11. Rassenbildung und physiologische Spezialisierung der Krankheitserreger, 12. Einführung von Wirtspflanzen und Krankheitserregern.

13—20: Bekämpfung: 13. Wirtschaftlichkeit der Krankheitsbekämpfung, 14. Chemische Bekämpfung, 15. Beizung und Saatgutbehandlung, 16. Bodenbehandlung und

Fruchtfolge, 17. Gesunderhaltung, Ausrottung und Quarantäne, 18. Resistenzzüchtung, 19. Pathologie der Marktware, 20. Probleme der Pflanzenkrankheiten.

Bei der Beurteilung des Aufbaues des vorliegenden Buches wie aber auch der gewählten Darstellung ist immer wieder zu berücksichtigen, daß die Verfasser kein Lehrbuch schaffen wollten, sondern ein Werk, das weiten Kreisen bis herunter zum Verbraucher pflanzlicher Produkte die Phytopathologie sozusagen auch menschlich näherbringen soll. Nur so verstehen wir die nach dem Vorwort gebrachte Zitatensammlung und auch manchen im Text gebrachten Ausspruch, ferner auch die am Anfang des Buches wiedergegebenen Reproduktionen des Titelbildes des Werkes der Brüder Tulasne, des Titelblattes der Dissertatio von Zallinger „De morbis plantarum" aus dem Jahre 1773, eines Versuchsplanes von Tillet, der Titelblätter der „Physiologia et Pathologia Plantarum" von Plenck aus dem Jahre 1794 und der 1833 erschienenen „Exantheme der Pflanzen" von Franz Unger sowie anderer alter Abbildungen.

An den größten Leserkreis wendet sich das Kapitel 19 über die Pathologie der Marktware. Hier werden die Verbraucher auf die während des Transportes und der Lagerung durch pflanzliche und tierische Schädlinge entstehenden Verluste wertvoller landwirtschaftlicher und gärtnerischer Produkte nachdrücklich hingewiesen und anschließend Wege und Methoden aufgezeigt, mittels derer diese Verluste eingeschränkt werden können.

Die Tendenz des Buches kennzeichnet sich auch in den Schlußzeilen des Werkes. Das Buch schließt mit einem in deutscher Sprache gebrachten Zitat, und zwar mit den Worten von Paracelsus: „Bauern, alte Weiber, Handwerker, der Scherer und Bader, sie haben oft Kenntnisse, von denen die gelehrten Herren keine Ahnung haben, die zu lernen sich wohl verlohnt."

Alles in allem: Ein eigenartiges Buch, das seinen amerikanischen Ursprung nicht verleugnet. Möge das Buch die Wünsche und Hoffnungen der Verfasser erfüllen.

Gassner

BAND 20, HEFT 1 NOVEMBER 1952

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner und Prof. Dr. E. Gäumann
Braunschweig Zürich

Mit 46 Abbildungen

1952

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 20, Heft 1, S. 1—112, Berlin 1952

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
4 DEC 1952

INHALT

Abhandlungen

Gäumann, E., Naef-Roth, St. und Kobel, H., Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. (Mit 19 Tabellen und 12 Abb. im Text) 1

Kobel, H., Untersuchungen über den Einfluß des Kupfers auf die pflanzliche Transpiration. (Mit 18 Tabellen und 10 Abb. im Text) 39

Schlösser, L.-A., Zur Frage der Wanderung europäischer Rübenvirosen 75

Hahn, H., Das Verhalten resistenter und anfälliger Leinsorten gegenüber *Colletotrichum lini* Manns et Bolley. (Mit 9 Abb.) 83

Kunz, R., Die Wirkungsweise von *Bacterium solanacearum* E. F. S., dem Erreger der tropischen Schleimkrankheit des Tabaks, auf *Solanum lycopersicum* L. Mit 15 Abbildungen 89

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 2,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 20,80 DM **Einzelpreis 22,80 DM**

Wir liefern aus:

Angewandte Botanik

Zeitschrift der Vereinigung für angewandte Botanik
Herausgegeben im Auftrage des Vorstandes vom 1. Schriftführer
Dr. K. HASSEBRAUK

Nach siebenjähriger Unterbrechung wird von der Vereinigung für angewandte Botanik e. V., Berlin, die seit 1902 bestehende Zeitschrift mit Band XXVI beginnend, erneut herausgegeben. Die Vereinigung setzt damit eine nunmehr 50jährige bewährte Tradition fort.

In den zunächst in zwangloser Folge erscheinenden Heften der Zeitschrift kommen alle Sondergebiete der angewandten Botanik zu Wort. Neben den auf angewandt-botanischem Gebiet und benachbarten Disziplinen Forschungsarbeit leistenden Wissenschaftlern werden auch der Praxis wertvolle Erkenntnisse durch die in der Zeitschrift veröffentlichten Ergebnisse und diskutierten Probleme vermittelt.

Es liegen von Band XXVI bisher vor:

Heft 1: Preis DM 6,—

Inhalt:

MAIER, W. †, Bormangelkrankheiten an Blumenkohl (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.) und Kohlrabi (*Brassica oleracea* L. var. *gongylodes* L.)

CZAJA, A. TH., Einige Düngungsversuche zu Yucca

BAUMEISTER, W., Kartoffellagerversuche mit Agermin, Belvitan K und Rhizopon C

BAUMEISTER, W., Künstliche Wachsüberzüge und Lagerfähigkeit verschiedener Apfelsorten

SCHULZ, G., Ein mykologisches Verfahren zur Bewertung vorbeugender Schutzmittel gegen das Verblauen von Kiefernholz

Heft 2: Preis DM 9,—

Inhalt:

GASSNER, G., Zur Frage der Übertragung von *Cercospora beticola* durch das Rübensaatgut

GASSNER, G. und GRIMM, H., Über die Wirkung von Kupferkalkspritzungen auf Ertrag und Stärkegehalt der Kartoffeln

RADEMACHER, B. und OZOLINS, J., Einfluß der Getreidekonkurrenz und des Nährstoffgehalts im Keimsubstrat auf Keimung und Jugendentwicklung verschiedener Unkräuter

FRÖMMING, E., Neuere Erkenntnisse über unsere Nacktschnecken als Schädlinge

TRAPPMANN, W., Zur Frage der Schneckenbekämpfung

MÜLLER, W., Der Einfluß von Licht, Temperatur und Substrat auf die Keimung von Samen einiger *Brassica*-Arten

Soeben erschien: Heft 3/4 (JUBILÄUMSHEFT) *Preis DM 16,80*

Inhalt:

GASSNER, G., 50 Jahre Vereinigung für angewandte Botanik

USCHDRAWEIT, H. A., Die Bedeutung des Tabakmosaikvirus und des Kartoffel-X-Virus für den Tomatenanbau

RUGE, U., Ertragssteigerung bei Tomaten und Bohnen, bedingt durch eine Blütenspritzung mit Hexachlorcyclohexan

SCHWARTZ, W., Untersuchungen über die Gewinnung der Faser von *Boehmeria nivea* HOOK et ARN

GARBER, K., Beobachtungen über die Eignung ausländischer Herkünfte von Erbsen- und Bohnensorten für den Anbau in Norddeutschland unter besonderer Berücksichtigung der Verwendung für die Tiefgefrierindustrie

RUGE, U., Über die Steigerung der Keimfähigkeit alten Saatgutes mit Hilfe von Äthylenchlorhydrin

SCHANDER, H., Untersuchungen über umweltbedingte Eigenschaften des Samens und Keimlings von Apfel und Birne

MÜLLER, W., Beiträge zur Nachreife und Lichtkeimung von Cruciferensamen

Bericht über die 42. Tagung der Vereinigung für angewandte Botanik in Goslar vom 3. bis 7. Juni 1952

Kleine Mitteilungen:
ESDORN, I., Über die Entwicklung des Citrus-Anbaues in Marokko

Besprechungen aus der Literatur

Vorläufiges Mitgliederverzeichnis

Im Buchhandel zu beziehen durch den

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG
Berlin SW 68 (Westberlin), Lindenstraße 44-47

Soeben erschien:

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe
Liste III

Von Dr. R. RIEMSCHNEIDER und ELISABETH SCHÖLZEL

128 Seiten, kartoniert, im Format der „Zeitschrift für angewandte Entomologie", 25,— DM

Die in der „Zeitschrift für angewandte Entomologie" in Fortsetzungen erschienene wertvolle Arbeit liegt jetzt komplett vor. Sie macht weite Kreise von Interessenten mit dem von den Verfassern bis Juli 1950 registrierten Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe bekannt. Die über 3000 Titel mit Angaben von Referaten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizid-Gruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige, international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit. Der größte Teil der Literaturstellen trägt einen Hinweis, ob der Schwerpunkt der Arbeit auf chemischem, physikalischem oder biologischem Gebiet zu suchen ist. Eine Fortsetzung dieser Literaturangaben (bezeichnet als Liste V) mit dem Material vom 1. Juli 1950 bis 1. Dezember 1951 befindet sich in Vorbereitung und erscheint Ende 1952.

Soeben erschien:

Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. KOTTE

Direktor des staatlichen Instituts für Pflanzenschutz in Freiburg i. Br.

1952. 2. völlig neubearb. Aufl. 288 S. m. 186 Abb. und 8 Farbtafeln kart. 24,— DM, Ganzleinen geb. 27,— DM

Aus dem Inhalt:

Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes im Gemüsebau — Die Ursachen der Schäden an den Gemüsepflanzen — Die Krankheiten und Schädlinge der Gemüsearten — Die Schädlingsbekämpfung im Gemüsebau — Bestimmungsschlüssel der wichtigsten Gemüsekrankheiten und -schädlinge — Alphabetisches Sachverzeichnis.

Das Buch des bekannten Fachmannes, dem wissenschaftliche Kenntnisse und praktische Erfahrung in gleichem Maße zur Verfügung stehen, wird in seiner neuen Auflage wieder für Studium und Praxis die Kenntnisse vermitteln, um Schädlinge und Krankheiten in den Gemüsekulturen zu erkennen und wirksam zu bekämpfen. Die neuesten großen Fortschritte in Chemie und Technik auf dem Gebiet des gemüsebaulichen Pflanzenschutzes sind entsprechend ihrer Bedeutung den neuzeitlichen Erfahrungen folgend behandelt und die Kapitel über dieses Gebiet gegenüber der Erstauflage beträchtlich erweitert. Auch die Fragen der Spurenelemente-Düngung fanden eine dem neuesten Stande des Wissens entsprechende Darstellung. Neben den bereits immer beachteten Schädlingen werden solche, die zur Zeit besondere Bedeutung gewonnen haben, ausführlich geschildert (Kohltriebrüßler, Bohnenfliege, Bohnenkäfer u. a.). Der Text wird durch vorzügliche Abbildungen wirksam unterstützt.

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44-47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. Erscheinungsweise: Jährlich 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 20, HEFT 2 JANUAR 1953

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Appel-Berlin, Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. **G. Gassner** und Prof. Dr. **E. Gäumann**
Braunschweig Zürich

Mit 38 Abbildungen

1953

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 20, Heft 2, *S. 113—240, Berlin 1953*

6 MAR

INHALT

Abhandlungen

Bercks, R., Über die Möglichkeit einer Virulenzänderung des Kartoffel-X-Virus. 113

Marcus, O., Über die Y-Virus-Verseuchung der Knollen primär infizierter Kartoffelpflanzen. (Mit 3 Abb.) 121

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über einen mutmaßlichen Desensibilisierungseffekt bei einem Welketoxin. (Mit 8 Abb.) 133

Richter, H. und Schneider, R., Untersuchungen zur morphologischen und biologischen Differenzierung von *Rhizoctonia solani* K. (Mit 23 Abb.) 167

Stapp, C. und Wetter, C., Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. III. Mitteilung. (Mit 4 Abb.) 227

Besprechungen 239

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 23,60 DM **Einzelpreis 25,60 DM**

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. GOFFART

Leiter des Instituts für Hackfruchtbau der Biologischen Bundesanstalt Münster i. W.

1951. 144 Seiten mit 91 Textabbildungen. Ganzleinen geb. 18,— DM

Die Kenntnis von den pflanzenparasitischen Nematoden hat im Laufe der letzten Jahrzehnte einen gewaltigen Aufschwung genommen. Das vorliegende interessante Werk gibt hervorragende Möglichkeiten, sich über den Stand der Forschung auf diesem Gebiet zu informieren. Dem Phytopathologen wie dem Botaniker, dem Zoologen und Bodenkundler wird ein ausgezeichneter Einblick in ein wichtiges Teilgebiet der angewandten Wissenschaft vermittelt.

„So sind Gründlichkeit, klarer und übersichtlicher Aufbau ein Kennzeichen dieses Buches, das den Niederschlag der 25jährigen Forschungsarbeit und praktischen Erfahrung eines unserer besten Nematodenspezialisten darstellt."
(„Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes", Braunschweig)

Vor über 25 Jahren von Karl Escherich begründet

Anzeiger für Schädlingskunde

Zugleich Nachrichtenblatt der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Herausgeber Dr. H. W. FRICKHINGER

Monatlich erscheint ein Heft — Bezugspreis vierteljährlich DM 7,50

Durch Veröffentlichungen hervorragender Wissenschaftler und Fachkenner unterrichtet die Zeitschrift laufend in Originalaufsätzen und Berichten über das Auftreten von Schädlingen in aller Welt, die Entwicklung der Mittel und Methoden der Schädlingsbekämpfung im In- und Ausland sowie über die praktische Anwendung neuer Mittel zur Bekämpfung tierischer Schädlinge. Das Wirken der Zeitschrift im Dienste der angewandt-entomologischen Wissenschaft und deren Anwendung in der Praxis hat mit dazu beigetragen, daß die Erkenntnis für die Notwendigkeit durchgreifender Schädlingsbekämpfung und wirksamen Pflanzenschutzes heute Allgemeingut weitester Kreise geworden ist.

Wir liefern aus:

Angewandte Botanik

Zeitschrift der Vereinigung für angewandte Botanik

Band XXVI, Heft 3/4 (Jubiläumsheft), Preis 16,80 DM

Inhalt:

G. GASSNER, 50 Jahre Vereinigung für angewandte Botanik

H. A. USCHDRAWEIT, Die Bedeutung des Tabakmosaikvirus und des Kartoffel-X-Virus für den Tomatenanbau

U. RUGE, Ertragssteigerung bei Tomaten und Bohnen, bedingt durch eine Blütenspritzung mit Hexachlorcyclohexan

W. SCHWARTZ, Untersuchungen über die Gewinnung der Faser von *Boehmeria nivea* Hook et Arn

K. GARBER, Beobachtungen über die Eignung ausländischer Herkünfte von Erbsen- und Bohnensorten für den Anbau in Norddeutschland unter besonderer Berücksichtigung der Verwendung für die Tiefgefrierindustrie

U. RUGE, Über die Steigerung der Keimfähigkeit alten Saatgutes mit Hilfe von Äthylenchlorhydrin

H. SCHANDER, Untersuchungen über umweltbedingte Eigenschaften des Samens und Keimlings von Apfel und Birne

W. MÜLLER, Beiträge zur Nachreife und Lichtkeimung von Cruciferensamen

Bericht über die 42. Tagung der Vereinigung für angewandte Botanik in Goslar vom 3.—7. Juni 1952

Kleine Mitteilungen:
ESDORN, I., Über die Entwicklung des Citrus-Anbaues in Marokko.

Besprechungen aus der Literatur.

Vorläufiges Mitgliederverzeichnis.

Nach siebenjähriger Unterbrechung wurde mit Band XXVI der Zeitschrift eine bewährte Tradition fortgesetzt. Den ersten beiden Heften dieses Bandes folgte in Form eines Doppelheftes das oben angezeigte als Jubiläumsheft anläßlich des 50jährigen Bestehens der Vereinigung für angewandte Botanik.

Weitere Hefte erscheinen zunächst in zwangloser Folge. Alle Gebiete der angewandten Botanik sowie der ihr benachbarten Disziplinen kommen in der Zeitschrift zu Wort.

Im Buchhandel zu beziehen durch:

VERLAG PAUL PAREY · BERLIN UND HAMBURG

Berlin SW 68 (Westberlin), Lindenstr. 44—47

Soeben erschien:

SORAUER

Handbuch der Pflanzenkrankheiten

IV. Band: Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 1. Teil

5. neubearbeitete Auflage
unter Mitwirkung maßgeblicher Wissenschaftler herausgegeben von
Prof. Dr. H. BLUNCK, Bonn

2. (Schluß-)Lieferung: **Lepidopteren und Trichopteren**
526 S. m. 154 Textabb., brosch. DM 112,—, Ganzleinen DM 116,—

Das „Handbuch der Pflanzenkrankheiten" von Sorauer ist das für die Pflanzenhygiene grundlegende und in der ganzen Welt maßgebende wissenschaftliche Standardwerk der Pflanzenkrankheiten und des Pflanzenschutzes. Es ist für jeden, der sich auf wissenschaftlicher Grundlage mit Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz beschäftigt, unentbehrlich.

Die außerordentlich starke Vermehrung des in Sorauers „Handbuch der Pflanzenkrankheiten" behandelten Stoffes machte eine teilweise Neugliederung des Gesamtwerkes erforderlich:

I. Band: **Die nichtparasitären Krankheiten**
1. Halbband, 6. Auflage 1933. 592 S. mit 123 Textabb., Ganzl. geb. DM 46,—
Überblick über die Geschichte der Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge — Allgemeine Pflanzenpathologie — Pflanzenernährung und Pflanzenkrankheiten — Klima und Witterung als Ursachen nichtparasitärer Krankheiten — Kälte und Hitze als Todesursache der Pflanze und als Ursache von Pflanzenkrankheiten
2. Halbband, 6. Auflage 1934. 553 S. m. 147 Textabb., Ganzleinen geb. DM 44,—
Durch innere Faktoren hervorgerufene Pflanzenkrankheiten - Ungünstige Bodenverhältnisse als Ursache für Pflanzenkrankheiten - Wunden - Rauchschäden - Abwässerschäden - Viruskrankheiten

II. Band: **Die Virus- und die Bakterienkrankheiten**
6. neubearbeitete Auflage in 2 Lieferungen
1. Lieferung: Die Viruskrankheiten, erscheint 1953
2. Lieferung: Die Bakterienkrankheiten, erscheint 1954

III. Band: **Die pflanzlichen Parasiten** 2. Teil (Pilzkrankheiten)
5. neubearbeitete Auflage 1932. 948 S. mit 195 Textabb, Ganzl. geb. DM 66,—
Eumycetes (2. Teil), *parasitische Algen, Flechten, parasitische Samenpflanzen*

IV. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 1. Teil
5. neubearbeitete Auflage in 2 Lieferungen; 1. Lieferung 1950. 458 Seiten mit 210 Textabbildungen, Ganzleinen gebunden DM 44,—
Protozoa und Metazoa (Nematodes, Annelida, Molusca, Arthropoda)
2. Liefrg. 1953; 526 S. m. 1554 Textabb., Ganzl. geb. DM 116,—, brosch. DM 112,—
Trichoptera, Lepidoptera

V. Band: **Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen** 2. Teil
5. neubearbeitete Auflage in 4 Lieferungen in Vorbereitung
1. Lieferung: *Dipteren* und *Hymenopteren*, erscheint Sommer 1953
2. Lieferung: *Coleopteren*, erscheint Ende 1953
3. Lieferung: *Rhynchoten*, erscheint voraussichtlich 1953
4. Lieferung: *Vertebrata*, erscheint voraussichtlich 1954

VI. Band: **Pflanzenschutz, Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten**
1. Halbband, 2. neubearbeitete Auflage
1. Lieferung 1952. 464 Seiten, Ganzleinen geb. DM 78,—
Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes — Die Aufgaben des Pflanzenschutzes
2. Lieferung in Vorbereitung
2. Halbband 1941. 740 Seiten mit 82 Textabbildungen, Ganzleinen geb. DM 52,—
Die technischen Mittel des Pflanzenschutzes — Die Bewertung des Saat- und Pflanzgutes — Anbau und Züchtung krankheitsresistenter Sorten — Die Pflanzenschutzgesetzgebung — Die Pflanzenschutzorganisation — Die Pflanzenschutzliteratur.

Jeder Band bzw. Halbband ist einzeln käuflich. Die Bestellung einer Lieferung eines Bandes verpflichtet zur Abnahme des gesamten Bandes.

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstraße 44-47 (West-Berlin). Herausgeber: Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstraße 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. Erscheinungsweise: Jährlich 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 20, HEFT 3 MAI 1953

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner und Prof. Dr. E. Gäumann
Braunschweig Zürich

Mit 56 Abbildungen

1953
PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 20, Heft 3, *S. 241—352, Berlin 1953*

INHALT

Abhandlungen

Buchwald, N. F., *Botryotinia (Sclerotinia) globosa* sp. n. on *Allium ursinum*, the Perfect Stage of *Botrytis globosa* Raabe. With 11 figures 241

Paclt, J., Kernbildung der Buche *(Fagus silvatica* L.). Mit 8 Abb. 255

Corbetta, G., Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso *(Oryza sativa* L.). 9 Tavole 260

Deutschmann, F., Über die „Purple Stain"-Krankheit der Sojabohne und die Farbstoffbildung ihres Erregers *Cercosporina kikuchii* Mats. et Tom. Mit 14 Abb. 297

Mühle, E., Über einen weiteren Fall gleichzeitigen Auftretens von *Dilophospora* spec. mit einem Nematoden. Mit 3 Abb. 311

Stalder, L., Untersuchungen über die Graufäule (*Botrytis cinerea* Pers.) an Trauben. Mit 11 Abb. 315

Kurze Mitteilungen

Gäumann, E., Stoll, Ch. und Kern, H., Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Vorläufige Mitteilung 345

Besprechungen 348

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,20 DM **Einzelpreis 23,40 DM**

Wir suchen: **Phytopathologische Zeitschrift Band 13**
Angebote erbeten an die Verlagsbuchhandlung PAUL PAREY,
Abteilung Antiquariat, Berlin SW 68 (Westberlin), Lindenstr. 44-47

Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. KOTTE
Direktor des Staatlichen Instituts für Pflanzenschutz in Freiburg i. Br.

1952. 2. völlig neubearb. Aufl. 288 S. m. 186 Abb. und 8 Farbtafeln kart. 24,— DM, Ganzleinen geb. 27,— DM

Aus dem Inhalt:

Die wirtschaftliche Bedeutung des Pflanzenschutzes im Gemüsebau — Die Ursachen der Schäden an den Gemüsepflanzen — Die Krankheiten und Schädlinge der Gemüsearten — Die Schädlingsbekämpfung im Gemüsebau — Bestimmungsschlüssel der wichtigsten Gemüsekrankheiten und -schädlinge — Alphabetisches Sachverzeichnis

Das Buch des bekannten Fachmannes, dem wissenschaftliche Kenntnisse und praktische Erfahrung in gleichem Maße zur Verfügung stehen, wird in seiner neuen Auflage wieder für Studium und Praxis die Kenntnisse vermitteln, um Schädlinge und Krankheiten in den Gemüsekulturen zu erkennen und wirksam zu bekämpfen. Die neuesten großen Fortschritte in Chemie und Technik auf dem Gebiet des gemüsebaulichen Pflanzenschutzes sind entsprechend ihrer Bedeutung den neuzeitlichen Erfahrungen folgend behandelt und die Kapitel über dieses Gebiet gegenüber der Erstauflage beträchtlich erweitert. Auch die Fragen der Spurenelemente-Düngung fanden eine dem neuesten Stande des Wissens entsprechende Darstellung. Neben den bereits immer beachteten Schädlingen werden solche, die zur Zeit besondere Bedeutung gewonnen haben, ausführlich geschildert (Kohltriebrüßler, Bohnenfliege, Bohnenkäfer u.a.). Der Text wird durch vorzügliche Abbildungen wirksam unterstützt.

Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. SCHWERDTFEGER

1950. 210 Seiten mit 139 Textabbildungen, Ganzleinen geb. 13,60 DM

Aus dem Inhalt:

Erster Hauptteil: Die einzelnen Waldkrankheiten
Durch Wettererscheinungen bedingte Krankheiten — Durch Bodeneigenschaften bedingte Krankheiten — Durch menschliche Einwirkungen bedingte Krankheiten — Durch Glieder des Biozöns bedingte Krankheiten.

Zweiter Hauptteil: Entstehung, Verlauf und Auswirkungen der Waldkrankheiten
Krankheitsvoraussetzungen auf seiten der Krankheitsursache — Krankheitsvoraussetzungen auf seiten des Waldes — Krankheitsverlauf und Krankheitserscheinungen — Wirtschaftliche Auswirkungen der Waldkrankheiten

Dritter Hauptteil: Verhütung und Bekämpfung der Waldkrankheiten
Waldhygiene — Diagnose der Waldkrankheiten — Prognose der Waldkrankheiten — Waldtherapie.

Dieser Grundriß gibt einen erschöpfenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre und macht mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädigungen des Waldes sowie ihrer Verhütung und Bekämpfung bekannt.
Dem Forstmann wie dem Phytopathologen, dem Botaniker wie dem Zoologen, dem Chemiker wie dem Bodenkundler werden über die geradezu stürmisch verlaufende Entwicklung dieses Arbeitsgebietes auf Grund neuester wissenschaftlicher Erkenntnisse erstmalig die allgemeinen Zusammenhänge und die sich ergebenden Nutzanwendungen vor Augen geführt.

VERLAG PAUL PAREY

Soeben erschienen:

Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung

Von Prof. Dr. H. KAPPERT

Direktor des Instituts für Vererbungs- und Züchtungsforschung der Technischen Universität Berlin-Charlottenburg

2. neubearbeitete und erweiterte Auflage. 343 Seiten mit 100 Abbildungen, brosch. 22,— DM, Ganzleinen geb. 25,— DM

Die zweite Auflage des seit Mai 1950 vergriffenen Buches „Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Pflanzenzüchtung" hat eine beachtliche Erweiterung erfahren. Die Zielsetzung des Verfassers ist die gleiche wie in der ersten Auflage: den angehenden Züchter aus den Kreisen der Studierenden wie den auf Vervollkommnung seiner Arbeitsmethoden bedachten erfahrenen Fachmann anzuregen, sich bei der Planung seiner Arbeiten mit der Frage zu beschäftigen, wieweit die vererbungswissenschaftlichen Erkenntnisse neue, erfolgversprechende Wege möglich machen. Die Behandlung der Genetik geht nicht von den Problemen aus, sondern führt von der genetischen Wissenschaft zu den Problemen der Züchtung hin.

Die aktuellen Fragen, wie die Züchtung durch Mutationsauslösung und Vermehrung oder Neukombination von Genomen in der Pflanzenzüchtung, werden wissenschaftlich unter Berücksichtigung der praktischen Durchführbarkeit behandelt.

An Beispielen wird gezeigt, wie trotz der Abhängigkeit der züchterischen Arbeit vom Zufall sich der genetisch denkende Züchter zum Herrn des Zufallgeschehens machen und Unwarscheinliches ermöglichen kann.

Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. BRAUN
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. RIEHM
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

7. Auflage, 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, brosch. DM 24,80, Ganzln. DM 26,80

Dieses Werk, das als das führende seines Gebietes anzusehen ist, spiegelt die wachsende Bedeutung des Pflanzenschutzes wider. In ihm wird größter Wert auf die Beschreibung der Krankheitssymptome gelegt, um mit Unterstützung der Bestimmungsschlüssel die richtige Diagnose zu ermöglichen. Dem gleichen Zweck dient die Einfügung besonders charakteristischer Schadensbilder. Durch eingehende Schilderung krankheitsbegünstigender Umweltsbedingungen wird der Sinn für richtige Pflanzenhygiene geschärft und damit eine wichtige Grundlage im Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge geschaffen. Den Abschluß jedes Kapitels bilden Angaben über Bekämpfungsmaßnahmen, wobei solche besonders hervorgehoben sind, deren Wirksamkeit erprobt und deren Anwendung wirtschaftlich zu rechtfertigen ist.

In der neubearbeiteten Auflage wurden Rübenderbrüßler, Blattrandkäfer, Tabakwürger, Apfelschalenwickler und Bormangelkrankheit der Reben neu aufgenommen. Zahlreiche Abbildungen wurden erneuert, die Literaturhinweise vervollständigt und auf den neuesten Stand gebracht.

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin). Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstr. 1, und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. Erscheinungsweise: Jährlich 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

BAND 20, HEFT 4 JUNI 1953

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Celle, Prof. Dr. K. O. Müller-Cambridge, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

herausgegeben von

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner und Prof. Dr. E. Gäumann
Braunschweig Zürich

Mit 61 Abbildungen

1953

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 20, **Heft 4,** *S. 353—460, Berlin 1953*

COMMONWEALTH MYCO

INHALT

Abhandlungen

Kobel, F., Zur Diagnose der Steinobstvirosen. (Mit 6 Abb.) 353

Frandsen, N. O., *Ascochyta sojaecola* auf Sojabohne in Deutschland. (Mit 8 Abb.) 375

Bazzigher, G., Über mutmaßlich induzierte Abwehrreaktionen bei *Phaseolus vulgaris* L. (Mit 14 Abb.) 383

Terrier, Ch., Note sur *Lophodermium macrosporum* (Hartig) Rehm 397

Klinkowski, M. und Behr, L., Die „Schwarzbeinigkeit" der Phaseolus-Arten. (Mit 13 Abb.) 405

Quantz, L., Untersuchungen über ein samenübertragbares Mosaikvirus der Ackerbohne (*Vicia faba*). (Mit 16 Abb.) 421

Gäumann, E. und Naef-Roth, St., Über den jahreszeitlichen Gang der Welketoxin-Empfindlichkeit der Tomatenpflanzen. (Mit 4 Abb.) 449

Besprechungen 459

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Schriftleitung: Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47 oder an die Herausgeber: für Arbeiten aus Deutschland und Österreich an Prof. Gassner, für Arbeiten aus anderen Ländern an Prof. Gäumann.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Bogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich.
Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 22,— DM Einzelpreis 24,20 DM

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. GOFFART

144 Seiten mit 91 Abbildungen, Ganzleinen geb. DM 18,—

Das Werk erfaßt in erster Linie die Art der Nematoden, welche die mitteleuropäischen Kulturpflanzen bedrohen.

Der allgemeine Teil behandelt Lebensweise der Älchen, Untersuchungsmethoden und Taxinomie.

Der spezielle Teil berücksichtigt eingehend die typischen Krankheitssymptome der von den pflanzenparasitären Nematoden befallenen Arten der Wirtspflanze. Es folgt die genaue Beschreibung, Lebensweise und Diagnose der in Betracht kommenden Schädiger unter Hinweis auf die Literatur, geographische Verbreitung und Bekämpfung. Die Ausführungen werden durch ein ausgezeichnetes Bildmaterial ergänzt.

„So sind Gründlichkeit, klarer und übersichtlicher Aufbau ein Kennzeichen dieses Buches, das den Niederschlag der 25jährigen Forschungsarbeit und praktischen Erfahrung eines unserer besten Nematodenspezialisten darstellt. Das Buch ist insbesondere für alle im Pflanzenschutz Tätigen, aber auch für den interessierten Landwirt, Pflanzenzüchter und Biologen eine willkommene Bereicherung seiner Fachliteratur. Es sollte deshalb in keiner Handbibliothek fehlen."

(„Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes, Braunschweig")

Krankheiten und Schädlinge im Obstbau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. KOTTE

2. neubearbeitete Auflage. 337 Seiten mit 213 Abbildungen und 8 farbigen Tafeln, Halbleinen geb. DM 25,60

Die hervorragend ausgestattete 2. Auflage behandelt in anschaulicher und umfassender Darstellung alle Krankheiten und Schädlinge im Obstbau, die Methoden der Schädlingsbekämpfung sowie die zahlreichen neuen Bekämpfungsmittel in ihren Eigenschaften und ihrer Anwendungsweise.

„Das Kottesche Buch dürfte nach wie vor als Standardwerk für jeden, der sich mit obstbaulichem Pflanzenschutz befaßt, unentbehrlich sein."

(„Nachrichtenblatt der Biologischen Zentralanstalt Braunschweig")

VERLAG PAUL PAREY

Literatur zur HCH- und Diën-Gruppe
Liste III

Von Dr. R. RIEMSCHNEIDER und ELISABETH SCHÖLZEL

128 Seiten, kartoniert DM 25,—

Als Fortsetzung erschien soeben **Liste V**

56 Seiten, kartoniert DM 9,60

Weite Kreise von Interessenten werden mit dem von den Verfassern bis 31. Dezember 1951 registrierten Literaturmaterial über die Insektizide der HCH- und Diën-Gruppe bekanntgemacht. Die über 4000 Titel mit Angaben von Referaten sowie von Arbeitsschwerpunkten und behandelten Insektizid-Gruppen bedeuten für Wissenschaft und Praxis eine wichtige international zu wertende Unterstützung in ihrer vielseitigen Arbeit. Der größte Teil der Literaturangaben trägt einen Hinweis, ob der Schwerpunkt der Arbeit auf chemischem, physikalischem oder biologischem Gebiet zu suchen ist.

Zeitschrift für angewandte Entomologie

zugleich Organ der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V."

Begründet 1914 von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. ESCHERICH

Herausgegeben von Prof. Dr. W. ZWÖLFER, München

Erscheinungsweise: jährlich 1 Band zu 4 Heften in zwangloser Folge, das Heft umfaßt etwa 10 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 3,—. Die Hefte werden einzeln berechnet.

Die „Zeitschrift für angewandte Entomologie" ist das führende internationale Publikationsorgan und damit der Mittelpunkt für die gesamten wissenschaftlichen Forschungen und Interessen auf diesem Gebiet. Ihre Originalbeiträge umfassen Forschungen aus dem Gesamtgebiet der angewandten Entomologie. Grundlagenforschung und Fragen ihrer praktischen Anwendung kommen dabei zu Wort. Sie machen den Hauptteil der Zeitschrift aus und betreffen alle wirtschaftlich schädlichen oder krankheitserregenden bzw. -übertragenden Insekten sowie die Möglichkeit ihrer Bekämpfung mit biologischen, technischen oder chemischen Mitteln, ferner Forschungen über unmittelbar oder mittelbar nützliche Arten wie Bienen, Seidenraupen, Lackschildläuse und andere Rohstofflieferanten unter den Kerbtieren.

VERLAG PAUL PAREY

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin). Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20b) Braunschweig, Humboldtstr. 1 und Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin).

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.

Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).